

**VERTRÄG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS**

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts EA-PCT-11177	WEITERES VORGEHEN	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 00/ 06139	Internationales Anmelddatum (Tag/Monat/Jahr) 30/06/2000	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 30/06/1999
Anmelder SYNTESOME GESELLSCHAFT FÜR MEDIZINISCHE ...		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 6 Blätter.

Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

- a. Hinsichtlich der Sprache ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.
 - Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.
- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das
 - in der internationalen Anmeldung in Schriftlicher Form enthalten ist.
 - zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
 - bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
 - bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
 - Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
 - Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung

- wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.
- wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der Zusammenfassung

- wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.
- wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der Zeichnungen ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. _____

- wie vom Anmelder vorgeschlagen
- weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.
- weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

keine der Abb.

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALLAINE

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
11. Januar 2001 (11.01.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/02018 A3

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: A61K 47/48

(RU). CHINAREV, Alexandre Alexandrovich [RU/RU]; Berezhkovskaya naberezhnaya, 12-53, Moscow, 121059
(RU). DICUSAR, Mariya Alexandrovna [RU/RU]; 3-i Nizhnelichoborsky proezd, 2/1-19, Moscow, 127238
(RU). GAMBARJYAN, Alexandra Sergeevna [RU/RU]; ul. Vardi, 40-71, Moscow, 117133 (RU). MARINA, Valentina Petrovna [RU/RU]; ul. Profsojuznaya, 140/2-273, Moscow, 117321 (RU).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/06139

(22) Internationales Anmeldedatum:
30. Juni 2000 (30.06.2000)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
199 30 177.8 30. Juni 1999 (30.06.1999) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): SYNTESOME GESELLSCHAFT FÜR MEDIZINISCHE BIOCHEMIE MBH [DE/DE]; Heimdallstrasse 4, D-81739 München (DE).

(74) Anwälte: HARTZ, Nikolai, F. usw.; Tal 29, D-80331 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: COMPOUNDS THAT ASSOCIATE ON THE INTERMOLECULAR LEVEL AND AGGREGATE BODIES THAT CONTAIN THEM

(54) Bezeichnung: INTERMOLEKULAR ASSOZIERENDE VERBINDUNGEN UND DIESE UMFASSENDE AGGREGATE

(57) Abstract: The invention relates to a compound of the general formula (I) X(B)_m, wherein X is a unit of the value m and the members B are the same or different and represent K-R, wherein K represents a bond or A¹-(A²-A³)_k-sp, wherein A¹ is (CH₂)_tY(CH₂)_u, wherein Y is >C=O, >NH, -O-, -S- or a bond, t is an integer from 0 to 6 and u is an integer from 0 to 6, A² represents -NHCO-, -CONH- or SCONH-, or -CO-, A³ is (CH₂)_r, O(CH₂)_r, NH(CH₂)_r, S(CH₂)_r, or -(CHQ)-, wherein r is an integer from 1 to 100, and R represents hydrogen, a ligand that is suitable to specifically bind to a receptor, a marker molecule or a catalytically active group, and m is at least 2, with the proviso that (1) in the compound at least one R is different from hydrogen, (2) at least 2 K are present that do not represent a bond, and (3) X, the members B and m are selected in such a manner that K can be associated on the intermolecular level in the liquid phase by the formation of hydrogen bonds and the simultaneous formation of aggregate bodies that represent on their surfaces several R that are different from hydrogen, and (4) the molar mass of fragment X(K)_m is less than 20.000.

A3

(57) Zusammenfassung: Verbindung der allgemeinen Formel (I): X(B)_m, wobei X für eine m-wertige Einheit steht und die B gleich oder verschieden sind und für K-R stehen, wobei K für eine Bindung oder für A¹-(A²-A³)_k-sp steht, wobei A¹ für (CH₂)_tY(CH₂)_u steht, wobei Y für >C=O, >NH, -O-, -S- oder eine Bindung, t für eine ganze Zahl von 0 bis 6 und u für eine ganze Zahl von 0 bis 6 steht, A² für -NHCO-, -CONH-, -OCONH- oder SCONH- steht, oder für -CO- steht, A³ für (CH₂)_r, O(CH₂)_r, NH(CH₂)_r, S(CH₂)_r, oder -(CHQ)- steht, wobei r für eine ganze Zahl von 1 bis 100 und Q für eine substituierte oder unsubstituierte Alkyl- oder Aryl-Gruppe steht, sp für einen zweiwertigen Spacer oder eine Bindung steht, und k für eine ganze Zahl von 5 bis 100 steht, und R für Wasserstoff, einen zur spezifischen Bindung an einen Rezeptor geeigneten Liganden, ein Marker-Molekül oder eine katalytisch aktive Gruppe steht, und m mindestens 2 ist, mit der Massgabe, dass (1) in der Verbindung mindestens ein R nicht Wasserstoff ist, (2) mindestens zwei K vorliegen, die nicht für eine Bindung stehen, und (3) X, die B und m so gewählt sind, dass eine intermolekulare Assoziation der K in flüssiger Phase durch Bildung von Wasserstoffbrücken-Bindungen unter Ausbildung von Aggregaten, die auf der Oberfläche mehrere R präsentieren, die nicht Wasserstoff sind, möglich ist, und (4) die Molmasse des Fragments X(K)_m weniger als 20.000 beträgt.

WO 01/02018



(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE,
SN, TD, TG).

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen

Recherchenberichts: 14. März 2002

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61K47/48

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

BIOSIS, PAJ, WPI Data, EPO-Internal, CHEM ABS Data, MEDLINE, CANCERLIT, DISSERTATION ABS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>UNVERZAGT C ET AL: "CHEMICAL AND ENZYMIC SYNTHESIS OF MULTIVALENT SIALOGLYCOPEPTIDES" CARBOHYDRATE RESEARCH, NL, ELSEVIER SCIENTIFIC PUBLISHING COMPANY. AMSTERDAM, vol. 251, 1994, pages 285-301, XP002068480 ISSN: 0008-6215 page 288 table 1</p> <p>---</p> <p>-/-</p>	1-24

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 August 2001

Date of mailing of the international search report

09/10/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Dullaart, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/06139

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>NISHIMURA SHIN-ICHIRO ET AL: "Chemoenzymic preparation of a glycoconjugate polymer having a sialyloligosaccharide: Neu5Ac-alpha(2 fwdarw 3)Gal-beta(1 fwdarw 4)GlcNAc." BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, vol. 199, no. 1, 1994, pages 249-254, XP002175210 ISSN: 0006-291X Absatz RESULTS AND DISCUSSION</p> <p>---</p>	1-24
Y	<p>CHOI S -K ET AL: "GENERATION AND IN SITU EVALUATION OF LIBRARIES OF POLY(ACRYLIC ACID) PRESENTING SIALOSIDES AS SIDE CHAINS AS POLYVALENT INHIBITORS OF INFLUENZA-MEDIATED HEMAGGLUTINATION" JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, US, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, DC, vol. 119, no. 18, 7 May 1997 (1997-05-07), pages 4103-4111, XP002068481 ISSN: 0002-7863 figures table 1</p> <p>---</p>	1-24
Y	<p>YAMADA K ET AL: "High performance polymer supports for enzyme-assisted synthesis of glycoconjugates" CARBOHYDRATE RESEARCH, NL, ELSEVIER SCIENTIFIC PUBLISHING COMPANY. AMSTERDAM, vol. 305, no. 3-4, 1 December 1997 (1997-12-01), pages 443-461, XP004131532 ISSN: 0008-6215 Schemes 1-2 page 444, right-hand column, last paragraph -page 447, right-hand column, line 3</p> <p>---</p>	1-24
Y	<p>CHOW H -F ET AL: "The Synthesis and Properties of Novel Functional Dendritic Molecules" TETRAHEDRON, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, vol. 54, no. 30, 23 July 1998 (1998-07-23), pages 8543-8660, XP004124033 ISSN: 0040-4020 page 8617, paragraph GLYCOCENDRIMERS -page 8620</p> <p>---</p>	1-24
		-/-

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	ROY R ET AL: "SOLID-PHASE SYNTHESIS OF DENDRITIC SIALOSIDE INHIBITORS OF INFLUENZA A VIRUS HAEMAGGLUTININ" JOURNAL OF THE CHEMICAL SOCIETY, CHEMICAL COMMUNICATIONS, GB, CHEMICAL SOCIETY. LETCHWORTH, no. 24, 21 December 1993 (1993-12-21), pages 1869-1872, XP000616525 ISSN: 0022-4936 Schemes	1-24
E	WO 00 55149 A (BIOTA SCIENT MANAGEMENT ;JIN BETTY (AU); WU WEN YANG (AU)) 21 September 2000 (2000-09-21) Schemes table 2	1-24
Y	EP 0 601 417 A (HOECHST AG) 15 June 1994 (1994-06-15) examples claims	1-24
Y	KRETZSCHMAR G ET AL: "Oligosaccharide Recognition by Selectins: Synthesis and Biological Activity of Multivalent Sialyl Lewis-X Ligands" TETRAHEDRON, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, vol. 51, no. 47, 20 November 1995 (1995-11-20), pages 13015-13030, XP004104680 ISSN: 0040-4020 page 13023 -page 13024	1-24
Y	REUTER J D ET AL: "INHIBITION OF VIRAL ADHESION AND INFECTION BY SIALIC-ACID-CONJUGATED DENDRITIC POLYMERS" BIOCONJUGATE CHEMISTRY, US, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, vol. 10, no. 2, March 1999 (1999-03), pages 271-278, XP000804253 ISSN: 1043-1802 figure 1 Absatz RESULTS	1-24

-/-

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/06139

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	ZANINI D ET AL: "NOVEL DENDRITIC ALPHA-SIALOSIDES: SYNTHESIS OF GLYCODENDRIMERS BASED ON A 3,3'-IMINOBIS(PROPYLAMINE) CORE" JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY, US, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, EASTON, vol. 61, no. 21, 18 October 1996 (1996-10-18), pages 7348-7354, XP002042912 ISSN: 0022-3263 page 7349, right-hand column, line 7351 Schemes 1-7 ---	1-24
Y,P	WU W -Y W -Y ET AL: "Synthesis of a polymeric 4-N-linked sialoside which inhibits influenza virus hemagglutinin" BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, GB, OXFORD, vol. 10, no. 4, February 2000 (2000-02), pages 341-343, XP004189928 ISSN: 0960-894X page 342 ---	1-24
Y	GAMBARYAN A S ET AL: "SPECIFICATION OF RECEPTOR-BINDING PHENOTYPES OF INFLUENZA VIRUS ISOLATES FROM DIFFERENT HOSTS USING SYNTHETIC SIALYLGLYCOPOLYMERS: NON-EGG-ADAPTED HUMAN H1 AND H3 INFLUENZA A AND INFLUENZA B VIRUSES SHARE A COMMON HIGH BINDING AFFINITY FOR 6'-SIALYL(N-ACETYLGLUCOSAMINE)" VIROLOGY, ACADEMIC PRESS, US, vol. 232, no. 2, 9 June 1997 (1997-06-09), pages 345-350, XP002068479 ISSN: 0042-6822 table 1 ---	1-24
Y	REUTER J ET AL: "Sialic acid conjugated dendritic polymers inhibit influenza virus binding to target cells in a structural and virus strain-specific manner." ABSTRACTS OF THE GENERAL MEETING OF THE AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, vol. 98, 1998, page 51, abstract no. A-77 XP001002424 & 98th General Meeting of the American Society for Microbiology; Atlanta, Georgia, USA; May 17-21, 1998, 1998 ISSN: 1060-2011 abstract ---	1-24
		-/-

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>FEOFANOV A V ET AL: "Study of sialylated neoglycoconjugates by surface-enhanced Raman scattering spectroscopy." BIOORGANICHESKAYA KIMIYA, vol. 23, no. 11, November 1997 (1997-11), pages 910-918, XP001002502 ISSN: 0132-3423 abstract figure 1</p> <p>-----</p>	1-24

Information on patent family members

PCT/EP 00/06139

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 0055149	A	21-09-2000	AU 2896600 A	04-10-2000
EP 0601417	A	15-06-1994	DE 4326777 A	16-02-1995
			AU 672643 B	10-10-1996
			AU 5232893 A	23-06-1994
			CA 2111129 A	12-06-1994
			HU 67045 A	30-01-1995
			JP 6279295 A	04-10-1994
			US 5470843 A	28-11-1995
			US 6037467 A	14-03-2000
			ZA 9309270 A	08-08-1994

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 A61K47/48

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

BIOSIS, AJ, WPI Data, EPO-Internal, CHEM ABS Data, MEDLINE, CANCERLIT, DISSE

C. ALS WEITERSTELLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	UNVERZAGT C ET AL: "CHEMICAL AND ENZYMIC SYNTHESIS OF MULTIVALENT SIALOGLYCOPEPTIDES" CARBOHYDRATE RESEARCH, NL, ELSEVIER SCIENTIFIC PUBLISHING COMPANY. AMSTERDAM, Bd. 251, 1994, Seiten 285-301, XP002068480 ISSN: 0008-6215 Seite 288 Tabelle 1 ---	1-24 -/-

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

- * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
- *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- *&* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

17. August 2001

09/10/2001

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
 Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Dullaart, A

ADDITIONAL MATTER PCT/ISA/210

Continuation of box I.2

Claims Nos.: 1-24

The present patent claims relate to a conjugate, a method for producing the same, and the use thereof, the characteristic group R of said conjugate being each time merely defined by means of desirable properties.

The use of these parameters must be considered in the present context as a lack of clarity under Article 6 PCT. It is impossible to compare the parameters chosen by the Applicant with what is disclosed in the prior art. The present patent application lacks clarity to such an extent that it is impossible to carry out a meaningful search. The search was therefore restricted to sialated conjugates such as are also mentioned in the examples.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). EPO policy, when acting as an International Preliminary Examining Authority, is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case, irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report (Article 19 PCT) or during any Chapter II procedure whereby the applicant provides new claims.

INTERNATIONALE FORSCHERCHENBERICHT

Int. nationales Aktenzeichen

PUF/EP 00/06139

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN	
Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile Beir. Anspruch Nr.
Y	<p>NISHIMURA SHIN-ICHIRO ET AL: "Chemoenzymic preparation of a glycoconjugate polymer having a sialyloligosaccharide: Neu5Ac-alpha(2 fwdarw 3)Gal-beta(1 fwdarw 4)GlcNAc." BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, Bd. 199, Nr. 1, 1994, Seiten 249-254, XP002175210 ISSN: 0006-291X Absatz RESULTS AND DISCUSSION ---</p> <p>CHOI S -K ET AL: "GENERATION AND IN SITU EVALUATION OF LIBRARIES OF POLY(ACRYLIC ACID) PRESENTING SIALOSIDES AS SIDE CHAINS AS POLYVALENT INHIBITORS OF INFLUENZA-MEDIATED HEMAGGLUTINATION". JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, US, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, DC, Bd. 119, Nr. 18, 7. Mai 1997 (1997-05-07), Seiten 4103-4111, XP002068481 ISSN 0002-7863 Abbildungen Tabelle 1 ---</p> <p>YAMADA K ET AL: "High performance polymer supports for enzyme-assisted synthesis of glycoconjugates" CARBOHYDRATE RESEARCH, NL, ELSEVIER SCIENTIFIC PUBLISHING COMPANY. AMSTERDAM, Bd. 305, Nr. 3-4, 1. Dezember 1997 (1997-12-01), Seiten 443-461, XP004131532 ISSN: 0008-6215 Schemes 1-2 Seite 444, rechte Spalte, letzter Absatz -Seite 447, rechte Spalte, Zeile 3 ---</p> <p>CHOW H -F ET AL: "The Synthesis and Properties of Novel Functional Dendritic Molecules" TETRAHEDRON, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, Bd. 54, Nr. 30, 23. Juli 1998 (1998-07-23), Seiten 8543-8660, XP004124033 ISSN: 0040-4020 Seite 8617, Absatz GLYCODENDRIMERS -Seite 8620 ---</p>
	1-24
	1-24
	1-24
	1-24

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	ROY R ET AL: "SOLID-PHASE SYNTHESIS OF DENDRITIC SIALOSIDE INHIBITORS OF INFLUENZA A VIRUS HAEMAGGLUTININ" JOURNAL OF THE CHEMICAL SOCIETY, CHEMICAL COMMUNICATIONS, GB, CHEMICAL SOCIETY. LETCWORTH, Nr. 24, 21. Dezember 1993 (1993-12-21), Seiten 1869-1872, XP000616525 ISSN: 0022-4936 Schemes ---	1-24
E	WO 00 55149 A (BIOTA SCIENT MANAGEMENT ; JIN BETTY (AU); WU WEN YANG (AU)) 21. September 2000 (2000-09-21) Schemes Tabelle 2 ---	1-24
Y	EP 0 601 417 A (HOECHST AG) 15. Juni 1994 (1994-06-15) Beispiele Ansprüche ---	1-24
Y	KRETZSCHMAR G ET AL: "Oligosaccharide Recognition by Selectins: Synthesis and Biological Activity of Multivalent Sialyl Lewis-X Ligands" TETRAHEDRON, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, Bd. 51, Nr. 47, 20. November 1995 (1995-11-20), Seiten 13015-13030, XP004104680 ISSN: 0040-4020 Seite 13023 -Seite 13024 ---	1-24
Y	REUTER J D ET AL: "INHIBITION OF VIRAL ADHESION AND INFECTION BY SIALIC-ACID-CONJUGATED DENDRITIC POLYMERS" BIOCONJUGATE CHEMISTRY, US, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, Bd. 10, Nr. 2, März 1999 (1999-03), Seiten 271-278, XP000804253 ISSN: 1043-1802 Abbildung 1 Absatz RESULTS ---	1-24
	-/--	

INTERNATIONALEn RECHERCHENBERICHT

Intra nationales Aktenzeichen

PlT/EP 00/06139

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	ZANINI D ET AL: "NOVEL DENDRITIC ALPHA-SIALOSIDES: SYNTHESIS OF GLYCOCENDRIMERS BASED ON A 3,3'-IMINOBIS(PROPYLAMINE) CORE" JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY, US, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, EASTON, Bd. 61, Nr. 21, 18. Oktober 1996 (1996-10-18), Seiten 7348-7354, XP002042912 ISSN: 0022-3263 Seite 7349, rechte Spalte, Zeile 7351	1-24
Y,P	REUTER J ET AL: "Synthesis of a polymeric 4-N-linked sialoside which inhibits influenza virus hemagglutinin" BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, GB, OXFORD, Bd. 10, Nr. 4, Februar 2000 (2000-02), Seiten 341-343, XP004189928 ISSN: 0960-894X Seite 342	1-24
Y	GAMBARYAN A S ET AL: "SPECIFICATION OF RECEPTOR-BINDING PHENOTYPES OF INFLUENZA VIRUS ISOLATES FROM DIFFERENT HOSTS USING SYNTHETIC SIALYLGlyCOPOLYMERS: NON-EGG-ADAPTED HUMAN H1 AND H3 INFLUENZA A AND INFLUENZA B VIRUSES SHARE A COMMON HIGH BINDING AFFINITY FOR 6'-SIALYL(N-ACETYLGLUCOSAMINE)" VIROLOGY, ACADEMIC PRESS, US, Bd. 232, Nr. 2, 9. Juni 1997 (1997-06-09), Seiten 345-350, XP002068479 ISSN: 0042-6822 Tabelle 1	1-24
Y	REUTER J ET AL: "Sialic acid conjugated dendritic polymers inhibit influenza virus binding to target cells in a structural and virus strain-specific manner." ABSTRACTS OF THE GENERAL MEETING OF THE AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, Bd. 98, 1998, Seite 51, abstract no. A-77 XP001002424 & 98th General Meeting of the American Society for Microbiology; Atlanta, Georgia, USA; May 17-21, 1998, 1998 ISSN: 1060-2011 Zusammenfassung	1-24

--/-

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	<p>FEOFANOV A V ET AL: "Study of sialylated neoglycoconjugates by surface-enhanced Raman scattering spectroscopy."</p> <p>BIOORGANICHESKAYA KHIMIYA, Bd. 23, Nr. 11, November 1997 (1997-11), Seiten 910-918, XP001002502 ISSN: 0132-3423 Zusammenfassung Abbildung 1</p> <p>-----</p>	1-24

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld I.2

Ansprüche Nr.: 1-24

Die geltenden Patentansprüche sind auf ein Konjugat, ein Verfahren zu dessen Herstellung, oder dessen Verwendung zu beziehen, wobei die charakteristische Gruppe R dieses Konjugats lediglich durch erstrebenswerte Eigenschaften definiert wird.

Die Verwendung dieser Parameter muss im gegebenen Zusammenhang als Mangel an Klarheit im Sinne von Art. 6 PCT erscheinen. Es ist unmöglich, die vom Anmelder gewählten Parameter mit dem zu vergleichen, was der Stand der Technik hierzu offenbart. Der Mangel an Klarheit ist dergestalt, daß er eine sinnvolle vollständige Recherche unmöglich macht. Daher wurde die Recherche beschränkt auf sialierte Konjugate, wie auch aus den Beispielen hervorgeht.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß Patentansprüche, oder Teile von Patentansprüchen, auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, daß die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, daß der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäß Kapitel II PCT neue Patentansprüche vorlegt.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld I.2

Ansprüche Nr.: 1-24

Die geltenden Patentansprüche sind auf ein Konjugat, ein Verfahren zu dessen Herstellung, oder dessen Verwendung zu beziehen, wobei die charakteristische Gruppe R dieses Konjugats lediglich durch erstrebenswerte Eigenschaften definiert wird.

Die Verwendung dieser Parameter muss im gegebenen Zusammenhang als Mangel an Klarheit im Sinne von Art. 6 PCT erscheinen. Es ist unmöglich, die vom Anmelder gewählten Parameter mit dem zu vergleichen, was der Stand der Technik hierzu offenbart. Der Mangel an Klarheit ist dergestalt, daß er eine sinnvolle vollständige Recherche unmöglich macht. Daher wurde die Recherche beschränkt auf sialierte Konjugate, wie auch aus den Beispielen hervorgeht.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß Patentansprüche, oder Teile von Patentansprüchen, auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, daß die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, daß der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäß Kapitel II PCT neue Patentansprüche vorlegt.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/06139

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 A61K47/48

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

BIOSIS, PAJ, WPI Data, EPO-Internal, CHEM ABS Data, MEDLINE, CANCERLIT, DISSERTATION ABS, EMBASE

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	UNVERZAGT C ET AL: "CHEMICAL AND ENZYMATIC SYNTHESIS OF MULTIVALENT SIALOGLYCOPEPTIDES" CARBOHYDRATE RESEARCH, NL, ELSEVIER SCIENTIFIC PUBLISHING COMPANY, AMSTERDAM, Bd. 251, 1994, Seiten 285-301, XP002068480 ISSN: 0008-6215 Seite 288 Tabelle 1 --- -/-	1-24

 Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen Siehe Anhang Patentfamilie

- * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

- *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- *&* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
17. August 2001	09/10/2001
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Bevollmächtigter Bediensleiter Dullaart, A

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/06139

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	<p>NISHIMURA SHIN-ICHIRO ET AL: "Chemoenzymic preparation of a glycoconjugate polymer having a sialyloligosaccharide: Neu5Ac-alpha(2 fwydarw 3)Gal-beta(1 fwydarw 4)GlcNAc." BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, Bd. 199, Nr. 1, 1994, Seiten 249-254, XP002175210 ISSN: 0006-291X Absatz RESULTS AND DISCUSSION ---</p>	1-24
Y	<p>CHOI S -K ET AL: "GENERATION AND IN SITU EVALUATION OF LIBRARIES OF POLY(ACRYLIC ACID) PRESENTING SIALOSIDES AS SIDE CHAINS AS POLYVALENT INHIBITORS OF INFLUENZA-MEDIATED HEMAGGLUTINATION" JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, US, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, DC, Bd. 119, Nr. 18, 7. Mai 1997 (1997-05-07), Seiten 4103-4111, XP002068481 ISSN: 0002-7863 Abbildungen Tabelle 1 ---</p>	1-24
Y	<p>YAMADA K ET AL: "High performance polymer supports for enzyme-assisted synthesis of glycoconjugates" CARBOHYDRATE RESEARCH, NL, ELSEVIER SCIENTIFIC PUBLISHING COMPANY. AMSTERDAM, Bd. 305, Nr. 3-4, 1. Dezember 1997 (1997-12-01), Seiten 443-461, XP004131532 ISSN: 0008-6215 Schemes 1-2 Seite 444, rechte Spalte, letzter Absatz -Seite 447, rechte Spalte, Zeile 3 ---</p>	1-24
Y	<p>CHOW H -F ET AL: "The Synthesis and Properties of Novel Functional Dendritic Molecules" TETRAHEDRON, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, Bd. 54, Nr. 30, 23. Juli 1998 (1998-07-23), Seiten 8543-8660, XP004124033 ISSN: 0040-4020 Seite 8617, Absatz GLYCODENDRIMERS -Seite 8620 ---</p>	1-24
	-/--	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/06139

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	ROY R ET AL: "SOLID-PHASE SYNTHESIS OF DENDRITIC SIALOSIDE INHIBITORS OF INFLUENZA A VIRUS HAEMAGGLUTININ" JOURNAL OF THE CHEMICAL SOCIETY, CHEMICAL COMMUNICATIONS, GB, CHEMICAL SOCIETY. LETCHEWORTH, Nr. 24, 21. Dezember 1993 (1993-12-21), Seiten 1869-1872, XP000616525 ISSN: 0022-4936 Schemes ----	1-24
E	WO 00 55149 A (BIOTA SCIENT MANAGEMENT ; JIN BETTY (AU); WU WEN YANG (AU)) 21. September 2000 (2000-09-21) Schemes Tabelle 2 ----	1-24
Y	EP 0 601 417 A (HOECHST AG) 15. Juni 1994 (1994-06-15) Beispiele Ansprüche ----	1-24
Y	KRETZSCHMAR G ET AL: "Oligosaccharide Recognition by Selectins: Synthesis and Biological Activity of Multivalent Sialyl Lewis-X Ligands" TETRAHEDRON, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, Bd. 51, Nr. 47, 20. November 1995 (1995-11-20), Seiten 13015-13030, XP004104680 ISSN: 0040-4020 Seite 13023 -Seite 13024 ----	1-24
Y	REUTER J D ET AL: "INHIBITION OF VIRAL ADHESION AND INFECTION BY SIALIC-ACID-CONJUGATED DENDRITIC POLYMERS" BIOCONJUGATE CHEMISTRY, US, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, Bd. 10, Nr. 2, März 1999 (1999-03), Seiten 271-278, XP000804253 ISSN: 1043-1802 Abbildung 1 Absatz RESULTS ---- -/-	1-24

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	ZANINI D ET AL: "NOVEL DENDRITIC ALPHA-SIALOSIDES: SYNTHESIS OF GLYCOCODENDRIMERS BASED ON A 3,3'-IMINOBIS(PROPYLAMINE) CORE" JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY, US, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, EASTON, Bd. 61, Nr. 21, 18. Oktober 1996 (1996-10-18), Seiten 7348-7354, XP002042912 ISSN: 0022-3263 Seite 7349, rechte Spalte, Zeile 7351 Schemes 1-7 ---	1-24
Y,P	WU W -Y W -Y ET AL: "Synthesis of a polymeric 4-N-linked sialoside which inhibits influenza virus hemagglutinin" BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, GB, OXFORD, Bd. 10, Nr. 4, Februar 2000 (2000-02), Seiten 341-343, XP004189928 ISSN: 0960-894X Seite 342 ---	1-24
Y	GAMBARYAN A S ET AL: "SPECIFICATION OF RECEPTOR-BINDING PHENOTYPES OF INFLUENZA VIRUS ISOLATES FROM DIFFERENT HOSTS USING SYNTHETIC SIALYLGlyCOPOLYMERS: NON-EGG-ADAPTED HUMAN H1 AND H3 INFLUENZA A AND INFLUENZA B VIRUSES SHARE A COMMON HIGH BINDING AFFINITY FOR 6'-SIALYL(N-ACETYLGLUCOSAMINE)" VIROLOGY, ACADEMIC PRESS, US, Bd. 232, Nr. 2, 9. Juni 1997 (1997-06-09), Seiten 345-350, XP002068479 ISSN: 0042-6822 Tabelle 1 ---	1-24
Y	REUTER J ET AL: "Sialic acid conjugated dendritic polymers inhibit influenza virus binding to target cells in a structural and virus strain-specific manner." ABSTRACTS OF THE GENERAL MEETING OF THE AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, Bd. 98, 1998, Seite 51, abstract no. A-77 XP001002424 & 98th General Meeting of the American Society for Microbiology; Atlanta, Georgia, USA; May 17-21, 1998, 1998 ISSN: 1060-2011 Zusammenfassung ---	1-24

-/-

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/06139

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	<p>FEOFANOV A V ET AL: "Study of sialylated neoglycoconjugates by surface-enhanced Raman scattering spectroscopy."</p> <p>BIOORGANICHESKAYA KHIMIYA, Bd. 23, Nr. 11, November 1997 (1997-11), Seiten 910-918, XP001002502 ISSN: 0132-3423 Zusammenfassung Abbildung 1</p> <p>-----</p>	1-24

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 00/06139

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 0055149	A	21-09-2000	AU	2896600 A	04-10-2000
EP 0601417	A	15-06-1994	DE	4326777 A	16-02-1995
			AU	672643 B	10-10-1996
			AU	5232893 A	23-06-1994
			CA	2111129 A	12-06-1994
			HU	67045 A	30-01-1995
			JP	6279295 A	04-10-1994
			US	5470843 A	28-11-1995
			US	6037467 A	14-03-2000
			ZA	9309270 A	08-08-1994

PCT

REQUEST

The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty.

For receiving Office use only

International Application No.

International Filing Date

Name of receiving Office and "PCT International Application"

Applicant's or agent's file reference
(if desired) (12 characters maximum) EA-PCT-11177

Box No. I TITLE OF INVENTION

Intermolecularly associating compounds, and aggregates comprising them

Box No. II APPLICANT

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

Syntesome

Gesellschaft für medizinische Biochemie mbH
Heimdallstr. 4

D-81739 Munich

This person is also inventor

Telephone No.

Faximile No.

Teleprinter No.

State (that is, country) of nationality:

DE

State (that is, country) of residence:

DE

This person is applicant all designated States all designated States except the United States of America the United States of America only the States indicated in the Supplemental Box for the purposes of:

Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

Bovin, Nicolai Vladimirovich
117871 Moscow
ul. Artsimovicha 11, kv. 181

This person is:

applicant only

applicant and inventor

inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

State (that is, country) of nationality:

RU

State (that is, country) of residence:

RU

This person is applicant all designated States all designated States except the United States of America the United States of America only the States indicated in the Supplemental Box for the purposes of:

Further applicants and/or (further) inventors are indicated on a continuation sheet.

Box No. IV AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

The person identified below is hereby/has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as:

agent

common representative

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

Telephone No. +49+89219976-0

Hartz, Nikolai F.
Tal 29
D – 80331 Munich

Facsimile No. +49+89223759

Teleprinter No.

Address for correspondence: Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.

Continuation of Box N . III

FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)

If none of the following sub-boxes is used, this sheet is not to be included in the request.

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

Tusikov, Alexander Borisovich
105037 Moscow
Ismailovsky prospect 47, kv. 4

This person is:

applicant only
 applicant and inventor
 inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

State (that is, country) of nationality:

RU

State (that is, country) of residence:

RU

This person is applicant
for the purposes of: all designated
States all designated States except
the United States of America the United States
of America only the States indicated in
the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

Chinarev, Alexander Alexandrovich
121059 Moscow
Berezhkovskaya naberezhnaya 12, kv. 53

This person is:

applicant only
 applicant and inventor
 inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

State (that is, country) of nationality:

RU

State (that is, country) of residence:

RU

This person is applicant
for the purposes of: all designated
States all designated States except
the United States of America the United States
of America only the States indicated in
the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

Dicusar, Maria Alexandrovna
127238 Moscow
3th Nizhnelichoborsky proezd 2/1, kv. 19

This person is:

applicant only
 applicant and inventor
 inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

State (that is, country) of nationality:

RU

State (that is, country) of residence:

RU

This person is applicant
for the purposes of: all designated
States all designated States except
the United States of America the United States
of America only the States indicated in
the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

Gambarian, Alexandra Sergeevna
117133 Moscow
ul Vargy 40, kv. 71

This person is:

applicant only
 applicant and inventor
 inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

State (that is, country) of nationality:

RU

State (that is, country) of residence:

RU

This person is applicant
for the purposes of: all designated
States all designated States except
the United States of America the United States
of America only the States indicated in
the Supplemental Box

Further applicants and/or (further) inventors are indicated in another continuation sheet.

Box No.V DESIGNATION OF STATES

The following designations are hereby made under Rule 4.9(a) (mark the applicable check-boxes; at least one must be marked):

Regional Patent

AI ARIPO Patent: GH Ghana, GM Gambia, KE Kenya, LS Lesotho, MW Malawi, SD Sudan, SL Sierra Leone, SZ Swaziland, UG Uganda, ZW Zimbabwe, and any other State which is a Contracting State of the Harare Protocol and of the PCT

EA Eurasian Patent: AM Armenia, AZ Azerbaijan, BY Belarus, KG Kyrgyzstan, KZ Kazakstan, MD Republic of Moldova, RU Russian Federation, TJ Tajikistan, TM Turkmenistan, and any other State which is a Contracting State of the Eurasian Patent Convention and of the PCT

EP European Patent: AT Austria, BE Belgium, CH and LI Switzerland and Liechtenstein, CY Cyprus, DE Germany, DK Denmark, ES Spain, FI Finland, FR France, GB United Kingdom, GR Greece, IE Ireland, IT Italy, LU Luxembourg, MC Monaco, NL Netherlands, PT Portugal, SE Sweden, and any other State which is a Contracting State of the European Patent Convention and of the PCT

OA OAPI Patent: BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Central African Republic, CG Congo, CI Côte d'Ivoire, CM Cameroon, GA Gabon, GN Guinea, GW Guinea-Bissau, ML Mali, MR Mauritania, NE Niger, SN Senegal, TD Chad, TG Togo, and any other State which is a member State of OAPI and a Contracting State of the PCT (if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line)

National Patent (if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line):

<input checked="" type="checkbox"/> AE United Arab Emirates.....	<input checked="" type="checkbox"/> LR Liberia.....
<input checked="" type="checkbox"/> AL Albania.....	<input checked="" type="checkbox"/> LS Lesotho.....
<input checked="" type="checkbox"/> AM Armenia.....	<input checked="" type="checkbox"/> LT Lithuania.....
<input checked="" type="checkbox"/> AT Austria.....	<input checked="" type="checkbox"/> LU Luxembourg.....
<input checked="" type="checkbox"/> AU Australia.....	<input checked="" type="checkbox"/> LV Latvia.....
<input checked="" type="checkbox"/> AZ Azerbaijan.....	<input checked="" type="checkbox"/> MD Republic of Moldova.....
<input checked="" type="checkbox"/> BA Bosnia and Herzegovina.....	<input checked="" type="checkbox"/> MG Madagascar.....
<input checked="" type="checkbox"/> BB Barbados.....	<input checked="" type="checkbox"/> MK The former Yugoslav Republic of Macedonia.....
<input checked="" type="checkbox"/> BG Bulgaria.....	<input checked="" type="checkbox"/> MN Mongolia.....
<input checked="" type="checkbox"/> BR Brazil.....	<input checked="" type="checkbox"/> MW Malawi.....
<input checked="" type="checkbox"/> BY Belarus.....	<input checked="" type="checkbox"/> MX Mexico.....
<input checked="" type="checkbox"/> CA Canada.....	<input checked="" type="checkbox"/> NO Norway.....
<input checked="" type="checkbox"/> CH und LI Switzerland and Liechtenstein.....	<input checked="" type="checkbox"/> NZ New Zealand.....
<input checked="" type="checkbox"/> CN China.....	<input checked="" type="checkbox"/> PL Poland.....
<input checked="" type="checkbox"/> CU Cuba.....	<input checked="" type="checkbox"/> PT Portugal.....
<input checked="" type="checkbox"/> CZ Czech Republic.....	<input checked="" type="checkbox"/> RO Romania.....
<input checked="" type="checkbox"/> DE Germany.....	<input checked="" type="checkbox"/> RU Russian Federation.....
<input checked="" type="checkbox"/> DK Denmark.....	<input checked="" type="checkbox"/> SD Sudan.....
<input checked="" type="checkbox"/> EE Estonia.....	<input checked="" type="checkbox"/> SE Sweden.....
<input checked="" type="checkbox"/> ES Spain.....	<input checked="" type="checkbox"/> SG Singapore.....
<input checked="" type="checkbox"/> FI Finland.....	<input checked="" type="checkbox"/> SI Slovenia.....
<input checked="" type="checkbox"/> GB United Kingdom.....	<input checked="" type="checkbox"/> SK Slovakia.....
<input checked="" type="checkbox"/> GD Grenada.....	<input checked="" type="checkbox"/> SL Sierra Leone.....
<input checked="" type="checkbox"/> GE Georgia.....	<input checked="" type="checkbox"/> TJ Tajikistan.....
<input checked="" type="checkbox"/> GH Ghana.....	<input checked="" type="checkbox"/> TM Turkmenistan.....
<input checked="" type="checkbox"/> GM Gambia.....	<input checked="" type="checkbox"/> TR Turkey.....
<input checked="" type="checkbox"/> HR Croatia.....	<input checked="" type="checkbox"/> TT Trinidad and Tobago.....
<input checked="" type="checkbox"/> HU Hungary.....	<input checked="" type="checkbox"/> UA Ukraine.....
<input checked="" type="checkbox"/> ID Indonesia.....	<input checked="" type="checkbox"/> UG Uganda.....
<input checked="" type="checkbox"/> IL Israel.....	<input checked="" type="checkbox"/> US United States of America.....
<input checked="" type="checkbox"/> IN India.....	<input checked="" type="checkbox"/> UZ Uzbekistan.....
<input checked="" type="checkbox"/> IS Iceland.....	<input checked="" type="checkbox"/> VN Viet Nam.....
<input checked="" type="checkbox"/> JP Japan.....	<input checked="" type="checkbox"/> YU Yugoslavia.....
<input checked="" type="checkbox"/> KE Kenya.....	<input checked="" type="checkbox"/> ZA South Africa.....
<input checked="" type="checkbox"/> KG Kyrgyzstan.....	<input checked="" type="checkbox"/> ZW Zimbabwe.....
<input checked="" type="checkbox"/> KP Democratic People's Republic of Korea.....	
<input checked="" type="checkbox"/> KR Republic of Korea.....	
<input checked="" type="checkbox"/> KZ Kazakstan.....	
<input checked="" type="checkbox"/> LC Saint Lucia.....	
<input checked="" type="checkbox"/> LK Sri Lanka.....	

Check-boxes reserved for designating States (for the purposes of a national patent) which have become party to the PCT after issuance of this sheet:

Algeria
 Belize
 Mozambique
 Antigua and Barbuda

Precautionary Designation Statement: In addition to the designations made above, the applicant also makes under Rule 4.9(b) all other designations which would be permitted under the PCT except any designation(s) indicated in the Supplemental Box as being excluded from the scope of this statement. The applicant declares that those additional designations are subject to confirmation and that any designation which is not confirmed before the expiration of 15 months from the priority date is to be regarded as withdrawn by the applicant at the expiration of that time limit. (Confirmation of a designation consists of the filing of a notice specifying that designation and the payment of the designation and confirmation fees. Confirmation must reach the receiving Office within the 15-month time limit.)

Supplemental Box If the Supplemental Box is not used, this sheet should not be included in the request.

1. If, in any of the Boxes, the space is insufficient to furnish all the information: in such case, write "Continuation of Box No." [indicate the number of the Box] and furnish the information in the same manner as required according to the captions of the Box in which the space was insufficient, in particular:

- (i) **if more than two persons are involved as applicants and/or inventors and no "continuation sheet" is available: in such case, write "Continuation of Box No. III" and indicate for each additional person the same type of information as required in Box No. III. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below;**
- (ii) **if, in Box No. II or in any of the sub-boxes of Box No. III, the indication "the States indicated in the Supplemental Box" is checked: in such case, write "Continuation of Box No. II" or "Continuation of Box No. III" or "Continuation of Boxes No. II and No. III" (as the case may be), indicate the name of the applicant(s) involved and, next to (each) such name, the State(s) (and/or, where applicable, ARIPO, Eurasian, European or OAPI patent) for the purposes of which the named person is applicant;**
- (iii) **if, in Box No. II or in any of the sub-boxes of Box No. III, the inventor or the inventor/applicant is not inventor for the purposes of all designated States or for the purposes of the United States of America: in such case, write "Continuation of Box No. II" or "Continuation of Box No. III" or "Continuation of Boxes No. II and No. III" (as the case may be), indicate the name of the inventor(s) and, next to (each) such name, the State(s) (and/or, where applicable, ARIPO, Eurasian, European or OAPI patent) for the purposes of which the named person is inventor;**
- (iv) **if, in addition to the agent(s) indicated in Box No. IV, there are further agents: in such case, write "Continuation of Box No. IV" and indicate for each further agent the same type of information as required in Box No. IV;**
- (v) **if, in Box No. V, the name of any State (or OAPI) is accompanied by the indication "patent of addition," or "certificate of addition," or if, in Box No. V, the name of the United States of America is accompanied by an indication "continuation" or continuation-in-part": in such case, write "Continuation of Box No. V" and the name of each State involved (or OAPI), and after the name of each such State (or OAPI), the number of the parent title or parent application and the date of grant of the parent title or filing of the parent application;**
- (vi) **if, in Box No. VI, there are more than three earlier applications whose priority is claimed: in such case, write "Continuation of Box No. VI" and indicate for each additional earlier application the same type of information as required in Box No. VI;**
- (vii) **if, in Box No. VI, the earlier application is an ARIPO application: in such case, write "Continuation of Box No. VI", specify the number of the item corresponding to that earlier application and indicate at least one country party to the Paris Convention for the Protection of Industrial Property for which that earlier application was filed.**

2. If, with regard to the precautionary designation statement contained in Box No. V, the applicant wishes to exclude any State(s) from the scope of that statement: in such case, write "Designation(s) excluded from precautionary designation statement" and indicate the name or two-letter code of each State so excluded.

3. If the applicant claims, in respect of any designated Office, the benefits of provisions of the national law concerning non-prejudicial disclosures or exceptions to lack of novelty: in such case, write "Statement concerning non-prejudicial disclosures or exceptions to lack of novelty" and furnish that statement below.

Continuation of Box No. III:

Marinina Valentina Petrovna
117321 Moscow
ul. Profsojuznaya 140/2, kv.273

Nationality: RU
Residence: RU
Inventor and Applicant
Applicant for US

Box No. VI PRIORITY CLAIM			<input type="checkbox"/> Further priority claims are indicated in the Supplemental Box		
Filing Date of earlier application (day/month/year)	Number of earlier application	Where earlier application is:			
		national application: country	regional application: [*] regional Office	international application: receiving Office	
item (1) 30/June/1999	199 30 177.8	Germany (DE)			
item (2)					
item (3)					

The receiving Office is requested to prepare and transmit to the International Bureau a certified copy of the earlier application(s) (only if the earlier application was filed with the Office which for the purposes of the present international application is the receiving Office) identified above as item(s): _____

* Where the earlier application is an ARIPO application, it is mandatory to indicate in the Supplemental Box at least one country party to the Paris Convention for the Protection of Industrial Property for which that earlier application was filed (Rule 4.10(b)(ii). See Supplemental Box.

Box No. VII INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

Choice of International Searching Authority (ISA) <i>(If two or more International Searching Authorities are competent to carry out the international search, indicate the Authority chosen; the two-letter code may be used):</i> ISA/	Request to use results of earlier search; reference to that search (if an earlier search has been carried out by or requested from the International Searching Authority): Date (day/month/year) Number Country (or regional Office)		
---	---	--	--

Box No. VIII CHECK LIST; LANGUAGE OF FILING

This international application contains the following number of sheets:	This international application is accompanied by the item(s) marked below:	
request : 5 description (excluding sequence listing part) : 49 claims : 6 abstract : 2 drawings : 3 sequence listing part of description : _____ Total number of sheets : 65	1. <input checked="" type="checkbox"/> fee calculation sheet 2. <input type="checkbox"/> separate signed power of attorney 3. <input type="checkbox"/> copy of general power of attorney; reference number, if any: 4. <input type="checkbox"/> statement explaining lack of signature 5. <input type="checkbox"/> priority document(s) identified in Box No VI as item(s): 6. <input type="checkbox"/> translation of international application into (language): 7. <input type="checkbox"/> separate indications concerning deposited microorganism or other biological material 8. <input type="checkbox"/> nucleotide and/or amino acid sequence listing in computer readable form 9. <input checked="" type="checkbox"/> other (specify): Supplemental sheet, further representatives	

Figure of the drawings which should accompany the abstract: Language of filing of the international application: German

Box No. IX SIGNATURE OF APPLICANT OR AGENT

Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the request)

(Signature)

Dr. Nikolai F. Hartz, Patent Attorney

For receiving Office use only

1. Date of actual receipt of the purported international application:	2. Drawings: <input type="checkbox"/> received <input type="checkbox"/> not received:
3. Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application:	
4. Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2):	
5. International Searching Authority specified by the applicant: ISA/	6. <input type="checkbox"/> Transmittal of search copy delayed until search fee is paid

For International Bureau use only

Date of receipt of the record copy by the International Bureau:

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
11. Januar 2001 (11.01.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/02018 A2(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **A61K 47/48**(21) Internationales Aktenzeichen: **PCT/EP00/06139**(22) Internationales Anmeldedatum:
30. Juni 2000 (30.06.2000)(25) Einreichungssprache: **Deutsch**(26) Veröffentlichungssprache: **Deutsch**(30) Angaben zur Priorität:
199 30 177.8 30. Juni 1999 (30.06.1999) DE(71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US*): SYNTESOME GESELLSCHAFT FÜR MEDIZINISCHE BIOCHEMIE MBH [DE/DE]; Heimdallstrasse 4, D-81739 München (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): BOVIN, Nikolai Vladimirovich [RU/RU]; ul. Artsimovicha, 11-181, Moscow, 117871 (RU). TUSIKOV, Alexandr Borisovich [RU/RU]; Ismailovsky prospect, 47-4, Moscoe, 105037

(RU). CHINAREV, Alexandre Alexandrovich [RU/RU]; Berezhkovskaya naberezhnaya, 12-53, Moscow, 121059 (RU). DICUSAR, Mariya Alexandrovna [RU/RU]; 3-i Nizhnechoborsky proezd, 2/1-19, Moscow, 127238 (RU). GAMBARIAN, Alexandra Sergeevna [RU/RU]; ul. Vardi, 40-71, Moscow, 117133 (RU). MARINA, Valentina Petrovna [RU/RU]; ul. Profsojuznaya, 140/2-273, Moscow, 117321 (RU).

(74) Anwälte: HARTZ, Nikolai, F. usw.; Tal 29, D-80331 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent*[Fortsetzung auf der nächsten Seite]*

(54) Title: COMPOUNDS THAT ASSOCIATE ON THE INTERMOLECULAR LEVEL AND AGGREGATE BODIES THAT CONTAIN THEM

(54) Bezeichnung: INTERMOLEKULAR ASSOZIERENDE VERBINDUNGEN UND DIESE UMFASSENDE AGGREGATE

(57) Abstract: The invention relates to a compound of the general formula (I) X(B)_m, wherein X is a unit of the value m and the members B are the same or different and represent K-R, wherein K represents a bond or A¹-(A²-A³)_t-sp, wherein A¹ is (CH₂)_rY(CH₂)_s, wherein Y is >C=O, >NH, -O-, -S- or a bond, t is an integer from 0 to 6 and u is an integer from 0 to 6, A² represents -NHCO-, -CONH-, -OCONH- or SCONH-, or -CO-, A³ is (CH₂)_rO(CH₂)_s NH(CH₂)_t, S(CH₂)_r or -(CHQ)-, wherein r is an integer from 1 to 6 and Q is a substituted or unsubstituted alkyl or aryl group, sp represents a bivalent spacer or a bond, and k is an integer from 5 to 100, and R represents hydrogen, a ligand that is suitable to specifically bind to a receptor, a marker molecule or a catalytically active group, and m is at least 2, with the proviso that (1) in the compound at least one R is different from hydrogen, (2) at least 2 K are present that do not represent a bond, and (3) X, the members B and m are selected in such a manner that K can be associated on the intermolecular level in the liquid phase by the formation of hydrogen bonds and the simultaneous formation of aggregate bodies that represent on their surfaces several R that are different from hydrogen, and (4) the molar mass of fragment X(K)_m is less than 20.000.

A2

(57) Zusammenfassung: Verbindung der allgemeinen Formel (I): X(B)_m, wobei X für eine m-wertige Einheit steht und die B gleich oder verschieden sind und für K-R stehen, wobei K für eine Bindung oder für A¹-(A²-A³)_t-sp steht, wobei A¹ für (CH₂)_rY(CH₂)_s steht, wobei Y für >C=O, >NH, -O-, -S- oder eine Bindung, t für eine ganze Zahl von 0 bis 6 und u für eine ganze Zahl von 0 bis 6 steht, A² für -NHCO-, -CONH-, -OCONH- oder SCONH- steht, oder für -CO- steht, A³ für (CH₂)_rO(CH₂)_s NH(CH₂)_t, S(CH₂)_r oder -(CHQ)- steht, wobei r für eine ganze Zahl von 1 bis 6 und Q für eine substituierte oder unsubstituierte Alkyl- oder Aryl-Gruppe steht, sp für einen zweiwertigen Spacer oder eine Bindung steht, und k für eine ganze Zahl von 5 bis 100 steht, und R für Wasserstoff, einen zur spezifischen Bindung an einen Rezeptor geeigneten Liganden, ein Marker-Moleköl oder eine katalytisch aktive Gruppe steht, und m mindestens 2 ist, mit der Massgabe, dass (1) in der Verbindung mindestens ein R nicht Wasserstoff ist, (2) mindestens zwei K vorliegen, die nicht für eine Bindung stehen, und (3) X, die B und m so gewählt sind, dass eine intermolekulare Assoziation der K in flüssiger Phase durch Bildung von Wasserstoffbrücken-Bindungen unter Ausbildung von Aggregaten, die auf der Oberfläche mehrere R präsentieren, die nicht Wasserstoff sind, möglich ist, und (4) die Molmasse des Fragments X(K)_m weniger als 20.000 beträgt.

WO 01/02018 A2

WO 01/02018

Intermolekulär assoziiierende Verbindungen und dies umfassende Aggregate

Die vorliegende Erfindung betrifft spezielle niedermolekulare Verbindungen, die geeignet sind durch intermolekulare Assoziation Aggregate zu bilden. Die vorliegende Erfindung betrifft auch Aggregate, die solche Verbindungen umfassen, sowie Verfahren zur Herstellung solcher Aggregate. Ferner betrifft die Erfindung spezielle Verwendungen der Verbindungen und Aggregate, insbesondere für therapeutische und diagnostische Zwecke.

Die simultane und spezifische Assoziation von mindestens zwei Liganden mit entsprechenden Rezeptoren führt zu multivalenten Wechselwirkungen zwischen zwei Einheiten, die diese Liganden bzw. Rezeptoren tragen. Derartige multivalente Wechselwirkungen sind in der Biologie sehr weit verbreitet, wobei die wechselwirkenden Einheiten Liganden, wie Oligosaccharide, Proteine, Nucleinsäuren, oder Lipide aufweisen können. Multivalente Wechselwirkungen sind gekennzeichnet durch eine Vielzahl von einzelnen schwachen monovalenten Bindungen, die in biologischen Systemen häufig gegenüber einer einzigen starken monovalenten Bindung bevorzugt sind (M. Mammen, S.-K. Choi, G. M. Whitesides, *Angew. Chemie*, 110, 2908, 1998).

In biologischen Systemen werden multivalente Wechselwirkungen häufig dann ausgebildet, wenn Bindungen zwischen Einheiten mit wenig affinen Liganden und Rezeptoren ausgebildet werden. Bekannte Beispiele für Wechselwirkungen zwischen wenig affinen Liganden und Rezeptoren sind Kohlenhydrat-Protein- und Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen (A. Danguy, K. Kayser, N. V. Bovin, H.-J. Gabius, *Trends Glycosc. Glycotech.*, 7, 261, 1995), die beispielsweise bei viralen und bakteriellen Infektionen, bei der Einleitung von Entzündungsprozessen, bei der Tumormetastasierung oder bei der Immunerkennung eine entscheidende Rolle spielen.

Natürliche multivalente Wechselwirkungen können insbesondere zu therapeutischen und diagnostischen Zwecken blockiert werden. Für die in-vitro Blockierung derartiger

multivalenter Wechselwirkungen sind bisher sowohl monovalente als auch multivalente Inhibitoren eingesetzt worden.

Bei Derivaten von natürlichen Liganden als monovalente Inhibitoren zeigt sich in der Praxis, dass aufgrund der geringen Bindungsaaffinität keine effiziente Inhibition multivalenter Wechselwirkungen erreicht werden kann. Zum Beispiel beträgt die Bindungskonstante bei der Wechselwirkung zwischen einem monovalenten Galaktosid und dem entsprechenden Lectin lediglich $K_D \sim 10^{-4} M$ (D. T. Connolly et al., *J. Biol. Chem.*, **257**, 939, 1982). Für eine therapeutische Anwendung müssten in einem solchen Fall sehr grosse Mengen Inhibitor eingesetzt werden. Eine Behandlungsmethode mit einem solchen Inhibitor wäre somit nicht wirtschaftlich.

Als multivalente Inhibitoren sind solche, bei denen mehrere Liganden kovalent an einen niedermolekularen Träger (L. L. Kiesling, N. L. Pohl, Chemistry & Biology, **3**, 71, 1996; G. D. Glick, P. L. Toogood, D. C. Wiley, J. J. Skehel, J. R. Knowles, J. Biol. Chem., **266**, 23660, 1991) oder an ein Dendrimer (D. Zanini, R. Roy, J. Org. Chem., **63**, 3486, 1998) gebunden sind, bekannt. In diesen Fällen wird jedoch die spezifische Bindungsaaffinität nur geringfügig erhöht.

Die WO 98/14215 offenbart Glucokonjugate als Inhibitoren der viralen Zelladhäsion. Insbesondere wird die Verbindung [Neu5Ac α 2-6Gal β 1-4GlcNAc β 1-NHCOCH₂NH-CO(CH₂)₄CO-(NHCH₂-CO)₃-NHCH₂-]₄C offenbart. Diese Verbindung bildet jedoch in wässriger Lösung keine Aggregate.

Ferner sind auch multivalente Inhibitoren bekannt, bei denen die aktiven Liganden an einen polymeren Träger gebunden sind. Diese Verbindungen zeigen im Vergleich zu den entsprechenden monomeren Liganden eine erhöhte Effizienz. Am Beispiel der Wechselwirkung zwischen dem Influenza-Hämagglyutinin, das an Neuraminsäure-Derivate an der Zelloberfläche bindet, wurde gezeigt, wie sich die Verwendung eines multivalenten Inhibitors auf Polymer-Basis auf diese Wechselwirkung auswirkt (monovalent: $K_D \sim 2 \times 10^{-4} M$, multivalent: $K_D \sim 3 \times 10^{-7} M$; A. Spaltenstein et al., *J. Am.*

Chem. Soc., 113, 686, 1991).

Trotz der verbesserten Wirksamkeit sind auch die bisher bekannten multivalenten polymeren Inhibitoren für einen therapeutischen Einsatz nicht geeignet. Die Nachteile sind hierbei auf die verwendeten polymeren Trägermoleküle und auf deren Eigenschaften zurückzuführen.

Bei der Verwendung von Polylysin oder von sulfatierten Polysacchariden als polymere Träger treten unspezifische ionische Wechselwirkungen mit Zelloberflächenstrukturen auf.

Polyacrylamide und andere Polymere, deren Polymeranteil ausschliesslich aus C-C-Bindungen besteht, haben den entscheidenden Nachteil, dass sie im Organismus zu toxischen Metaboliten abgebaut werden.

Hochpolymere (60-70 kDa) werden nicht mehr wirkungsvoll von der Niere filtriert, wobei ihr Abbau durch die Leber durch die Bildung von toxischen Metaboliten zu Unverträglichkeiten führen kann.

In den Patentanmeldungen EP 601417 und WO 95/34673 werden Kohlenhydratrezeptorblocker auf Polymerbasis beschrieben, die als Gesamt molekül und als Abbauprodukte physiologisch verträglich sind. Diese Eigenschaften werden durch die Verwendung von biodegradablen Polymeren erreicht. Für einen Einsatz als Arzneimittel haben jedoch auch diese Produkte einen grundsätzlichen Nachteil, denn Polymere sind in der Praxis keine reinen und exakt definierten Verbindungen, sondern bestehen vielmehr aus komplexen Gemischen von Verbindungen unterschiedlicher molekularer Grösse. Durch diesen Umstand wird die Anwendung (Zulassung) eines solchen polymeren Inhibitors als Arzneimittel ausserordentlich erschwert.

Wichtig für ein Arzneimittel sind genaue Kenntnisse der Zusammenhänge zwischen der chemischen Struktur eines Wirkstoffs und seinen pharmakologischen

Eigenschaften. Im Falle von Substanz-Gemischen müsste gezeigt werden, in welcher Art und Weise die Zusammensetzung eines Gemisches seine jeweiligen pharmakologischen Eigenschaften beeinflusst. Zudem muss ein Arzneimittel in seiner chemischen Zusammensetzung genau definiert sein und nachweislich in eben dieser hergestellt werden können. Beide Voraussetzung können im Fall der polymeren multivalenten Inhibitoren mit den derzeit verfügbaren synthetischen und analytischen Methoden und unter einem technisch sinnvollen Aufwand nicht erfüllt werden.

Eine weitere Gruppe von multivalenten Inhibitoren bilden Verbindungen bei denen die Liganden an die Oberfläche von Liposomen gebunden sind. Liposome haben den Nachteil, dass ihre lipophilen Bestandteile unspezifische Wechselwirkungen eingehen können, z.B. durch den Einbau in Zellmembranen.

Daher ist Aufgabe der vorliegenden Erfindung die Nachteile des Standes der Technik zu vermeiden und neue Verbindungen mit verbesserten Eigenschaften als multivalente Inhibitoren biologischer Erkennungsprozesse bereitzustellen, wobei die Verbindungen spezifisch wirken und zur Verwendung als Arzneimittel geeignet sind.

Diese Aufgabe wird gemäß der Ansprüche gelöst mit einer Verbindung der allgemeinen Formel (I)



wobei

X für eine m-wertige Einheit steht und die

B gleich oder verschieden sind und für K-R stehen,

wobei

K für eine Bindung oder für $A^1-(A^2-A^3)_k-sp$ steht, wobei

A^1 für $(CH_2)_tY(CH_2)_u$ steht, wobei

Y für $>C=O$, $>NH$, $-O-$, $-S-$ oder eine Bindung,

t für eine ganze Zahl von 0 bis 6 und

u für eine ganze Zahl von 0 bis 6 steht,
A² für -NHCO-, -CONH-, -OCONH- oder SCONH- steht,
A³ für (CH₂)_n, O(CH₂)_n, NH(CH₂)_n, S(CH₂)_n, oder -(CHQ)- steht,
wobei
r für eine ganze Zahl von 1 bis 6 und
Q für eine substituierte oder unsubstituierte Alkyl- oder
Aryl- Gruppe steht,
sp für einen zweiwertigen Spacer oder eine Bindung steht,
und
k für eine ganze Zahl von 5 bis 100 steht, und
R für Wasserstoff, einen zur spezifischen Bindung an einen
Rezeptor geeigneten Liganden, ein Marker-Molekül oder eine
katalytisch aktive Gruppe steht, und
m mindestens 2 ist,
mit der Maßgabe, dass
(1) in der Verbindung mindestens ein R nicht Wasserstoff ist,
(2) mindestens zwei K vorliegen, die nicht für eine Bindung stehen, und
(3) X, die B und m so gewählt sind, dass eine intermolekulare Assoziation
der K in flüssiger Phase durch Bildung von Wasserstoffbrücken-
Bindungen unter Ausbildung von Aggregaten, die auf der Oberfläche
mehrere R präsentieren, die nicht Wasserstoff sind, möglich ist, und
(4) die Molmasse des Fragments X(K)_m weniger als 20.000 beträgt.

In der Verbindung der Formel (I) kann A² auch -CO- bedeuten.

Weitere bevorzugte Ausführungsformen sind Gegenstand der Unteransprüche.

In einer bevorzugten Ausführungsform beträgt die Molmasse des Fragments X(K)_m
weniger als 10.000, noch bevorzugter weniger als 4.000.

Durch Selbstassoziation von Verbindungen der allgemeinen Formel (I) entstehen

Aggregate, die als hocheffiziente multivalente Inhibitoren biologischer Erkennungsprozesse wirken.

Bei den Verbindungen der Formel (I) sind X, die B und m so gewählt, dass eine intermolekulare Assoziation der K in flüssiger Phase, insbesondere auch unter wässrigen Bedingungen, vorzugsweise unter in vivo Bedingungen, unter Ausbildung von Aggregaten, die auf der Oberfläche mehrere R präsentieren, die nicht Wasserstoff sind, möglich ist.

Es wurde gefunden, dass durch die Ausbildung der erfindungsgemäßen Aggregate die Nachteile der bisher bekannten multivalenten Wirkstoffe vermieden werden können.

Es wurde insbesondere gefunden, dass die geringe Erhöhung der Bindungsaffinität gegenüber einem monovalenten Wirkstoff bei kovalenter Bindung mehrerer Liganden an einen niedermolekularen Träger oder an ein Dendrimer darauf zurückzuführen ist, dass solche Moleküle zwar mehrere Liganden präsentieren, diese aber nicht oder nur teilweise so angeordnet werden können, dass es zu einer thermodynamisch günstigen Wechselwirkung mit Rezeptoren kommt. Es wurde gefunden, dass die Wechselwirkung eines polyvalenten Wirkstoffs verbessert werden kann, indem die Ligandenanordnung mit der Rezeptorenanordnung dynamisch gekoppelt wird. Es wurde gefunden, dass diese dynamische Kopplung über eine intermolekulare Aggregatbildung erreicht werden kann, bei der sich spezielle Molekülbereiche des Wirkstoffs intermolekular assoziieren und so eine Anpassung der Ligandenanordnung ermöglicht wird. Schließlich wurde gefunden, dass die dadurch ermöglichte Anpassung der Ligandenanordnung zu einer drastischen Erhöhung der Bindungsaffinität des polyvalenten Wirkstoffs führt.

Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung ermöglichen durch die Reversibilität der Aggregatbildung die polyvalente Wechselwirkung einer molekularen Einheit mit mehreren Rezeptoren unter nachträglicher Optimierung der Ligandenanordnung, wobei eine thermodynamisch günstige Anordnung gefunden wird ohne dass es zu

unerwünschten Nebenwirkungen, wie der Einlagerung der Verbindungen in die Zellmembran, kommt.

Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung sind kleine Moleküle für die eine Wirkung als Antigen nicht zu erwarten ist und auch die anderen bei polymeren polyvalenten Wirkstoffen auftretenden Nachteile vermieden werden.

Der molekulare Aufbau der Verbindungen der allgemeinen Formel (I) ist im wesentlichen gekennzeichnet durch drei Strukturmerkmale:

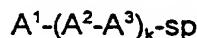
- ein m-wertiges Fragment X,
- mehrere Molekülketten K, die kovalent an das Fragment X gebunden sind,
- mindestens eine terminale Gruppe R, die zur spezifischen Bindung an einen Rezeptor geeigneter Ligand, ein Marker-Molekül oder eine katalytisch aktive Gruppe ist.

Die Molekülketten K zeichnen sich durch eine chemische Struktur aus, die eine intermolekulare Assoziation in flüssiger Phase auch unter wässrigen, insbesondere in vivo Bedingungen unter Ausbildung von Aggregaten ermöglicht. Die Ausbildung der Aggregate beruht auf nicht-kovalenten Wechselwirkungen, wobei die nicht-kovalenten Wechselwirkungen ionische Wechselwirkungen, van der Waals-Wechselwirkungen, hydrophobe Wechselwirkungen oder bevorzugt Wasserstoffbrückenbindungen sein können. Der Aufbau von nicht-kovalenten Bindungen zwischen mehreren Verbindungen der allgemeinen Formel (I) bewirkt eine Selbstassoziation und somit die Bildung von Aggregaten.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel (I) weisen mindestens eine terminale Gruppe R auf, die beispielsweise von einem biologisch aktiven Liganden oder einem Marker abgeleitet ist. Die terminalen Gruppen R sind kovalent an die terminalen Enden der zur Assoziation dienenden Molekülketten gebunden. Die Bindung dieser Gruppen kann direkt oder über einen Spacer geschehen. Als Spacer kann ein zw iwertiges Molekülfragment dienen, das an der intermolekularen Assoziation durch nicht-

kovalente Wechselwirkungen nicht teilnimmt, sondern lediglich dazu dient, die terminalen Gruppen R zu halten. Ein solcher Spacer ist formal Teil der Molekülkette K.

Erfnungsgemäß kann K in der Formel (I) für



stehen, wobei

A^1 für $(CH_2)_t Y (CH_2)_u$ steht, wobei

Y für $>C=O$, $>NH$, $-O-$, $-S-$ oder eine Bindung,

t für eine ganze Zahl von 0 bis 6 und

u für eine ganze Zahl von 0 bis 6 steht,

A^2 für $-NHCO$ -, $-CONH$ -, $-OCONH$ - oder $SCONH$ - steht,

A^3 für $(CH_2)_r$, $O(CH_2)_r$, $NH(CH_2)_r$, $S(CH_2)_r$, oder

$-(CHQ)-$ steht, wobei

r für eine ganze Zahl von 1 bis 6 und

Q für eine substituierte oder unsubstituierte Alkyl- oder Aryl- Gruppe steht,

sp für einen zweiwertigen Spacer oder eine Bindung steht, und

k für eine ganze Zahl von 5 bis 100 steht.

In der Verbindung der Formel (I) kann A^2 auch $-CO$ - bedeuten.

Besonders bevorzugt sind Verbindungen der allgemeinen Formel (I), wobei

m für eine ganze Zahl von 2 bis 4 steht, und

X für CH_{4-m} , NH_{3-m} , N^+H_{4-m} , $>P-$ (wenn m = 3), $>P^+<$ (wenn m = 4), $>B-$ (wenn m = 3), eine lineare Atomgruppe C_2H_{6-m} , $>CH(CH_2)_zCH<$, $>C=C<$, $>N-N<$, $>N(CH_2)_zN<$ wobei z = 2 - 6, wenn m = 4), eine carbocyclische Atomgruppe C_6H_{6-m} , C_6H_{12-m} , oder eine heterocyclische Atomgruppe C_3N_3 (wenn m = 3), C_4N_2 (wenn m = 4) steht.

Es ist besonders bevorzugt, dass bei einer Verbindung der allgemeinen Formel (I) mindestens 3 K vorliegen. Speziell sind Verbindungen der allgemeinen Formel (I) bevorzugt, bei denen mindestens zwei, noch bevorzugter drei R nicht Wasserstoff sind.

Wenn mehr als eine terminale Gruppe R in einer Verbindung der allgemeinen Formel (I) vorliegt, dann können diese Gruppen gleich oder verschieden sein.

Als Beispiele der für die spezifische Bindung an einen Rezeptor geeigneten Liganden, die als terminale Gruppen R der Verbindungen der allgemeinen Formel (I) fungieren, seien natürlich vorkommende biologische Erkennungsstrukturen wie Mono- oder Oligosaccharide, Peptide, Mono- oder Oligonukleotide oder Nukleinbasen genannt. Es können aber auch synthetische Derivate dieser Verbindungen oder andere organische oder anorganische Verbindungen, die von biologischen Rezeptoren erkannt werden, verwendet werden. Als Liganden können ferner bekannte Verbindungen verwendet werden, die in freier Form als therapeutische Wirkstoffe zum Einsatz kommen. Beispielhaft seien genannt:

- Antitumormittel, wie z. B. Daunomycin, Doxorubicin, Vinblastin, Bleomycin;
- Antibiotika, wie z. B. Penicilline, Erythromycine, Azidamfenicol, Cephalotin und Griseofulvin;
- Antagonisten der Blutplättchenaktivierungsfaktoren;
- Leukotrien Antagonisten;
- Inhibitoren des Cyclooxygenase-Systems, wie z. B. Salicylsäureverbindungen;
- Lipoxygenase-Inhibitoren;
- Antiphlogistika, wie z. B. Indomethacin;
- Antirheumatische, wie z. B. Nifenazon;
- Therapeutische Radionuklide, wie z.B. Wismuth;
- Neuraminidase;
- Inhibitoren, wie z.B. Zanamivir.

Vorzugsweise werden Oligosaccharide verwendet, die auf Zelloberflächen als

Bestandteil von Glycoproteinen, Glycolipiden oder Proteoglycanen vorkommen, sowie beliebige Teilstücke daraus.

Spezielle Oligosaccharide, die als terminale Gruppe R verwendet werden können sind wie folgt: Sialinsäure, Sialyllactose, Sialyllactosamin, Lactose, Gal α 1-3Gal, Gal α 1-3(Fuc α 1-2)Gal, GaINAc α 1-3(Fuc α 1-2)Gal, Neu5Ac α 2-6GalNAc, SiaLe A , SiaLe X , HSO₃Le A , HSO₃Le X , Gal α 1-3Gal β 1-4GlcNAc, Gal α 1-3Gal β 1-4Glc, Neu5Ac α 2-6Gal β 1-4GlcNAc.

Außerdem sind Sialinsäurebenzylglycosid, HSO₃GlcA β 1-3Gal, HSO₃GlcA β 1-3Gal β 1-4GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc, GaINAc α , GaINAc α 1-3(Fuc α 1-2)Gal β 1-4GlcNAc, Gal α 1-3(Fuc α 1-2)Gal β 1-4GlcNAc, HSO₃(Sia)Le X , HSO₃(Sia)Le A , Le Y , GlcNAc β 1-6(GlcNAc β 1-3)Gal β 1-4Glc, GaINAc β 1-4(Neu5Ac α 2-3)Gal β 1-4Glc, Mannose-6-phosphat, GaINAc β 1-4GlcNAc, Oligo-Sialinsäure, N-Glycolylneuraminsäure, Gal α 1-4Gal β 1-4Glc, Gal α 1-4Gal β 1-4GlcNAc bevorzugt.

Derivate oder Mimetika der oben genannten Mono- oder Oligosaccharide, Peptide, Mono- oder Oligonukleotide bzw. Nukleinbasen können auch verwendet werden.

Die terminalen Gruppen R können auch von Markermolekülen abgeleitet sein. Solche Markermoleküle ermöglichen den Einsatz der Verbindungen der allgemeinen Formel (I) bei diagnostischen Anwendungen. Alle dem Fachmann bekannten Markermoleküle für in vitro diagnostische Testsysteme wie z. B. Biotin, Fluorescein, Rhodamin, Digoxygenin oder radioaktive Marker kommen für die Zwecke der vorliegenden Erfindung in Frage. Insbesondere dem Fachmann bekannte Marker für die in vivo Diagnose, wie radioaktive Marker, die ein gebundenes Radionuklid enthalten, z. B. Technetium, Röntgenkontrastmittel, die z. B. eine iodierte Verbindung beinhalten, oder Kernresonanzkontrastmittel, z. B. auf Basis von Gadoliniumverbindungen seien erwähnt.

Es wird vorgeschlagen, dass in einer bevorzugten Ausführungsform die terminalen Gruppen R so gewählt werden, dass Aggregate erhalten werden, die einerseits über geeignete Liganden durch polyvalente Wechselwirkungen mit geeigneten Rezeptoren wechselwirken und andererseits Markereinheiten enthalten. Dadurch werden die polyvalenten Wechselwirkungen einer Detektion zugänglich und die Verbindungen können in einem diagnostischen Verfahren eingesetzt werden.

Die Aggregate können in diesem Fall aus Verbindungen der Formel (I) aufgebaut sein, die sowohl Liganden- als auch die Markerreste enthalten. Vorzugsweise umfasst ein solches Aggregat nur eine spezielle Verbindung der allgemeinen Formel (I). Andererseits kann ein Aggregat aber auch mehrere verschiedene Verbindungen der Formel (I) umfassen, wobei die Verbindungen entweder Liganden oder Markerreste enthalten.

Die vorliegende Erfindung stellt ferner ein Aggregat der folgenden allgemeinen Formel (II) bereit,

$$\{X(B)_m\}_n \quad (II)$$

wobei die

$X(B)_m$ gleich oder verschieden sein können und für eine Verbindung der allgemeinen Formel (I), wie sie in einem der Ansprüche 1 bis 11 definiert ist, stehen, und

n für 2 bis 100.000 steht,

und wobei die $X(B)_m$ nicht-kovalent gebunden sind.

Insbesondere stellt die vorliegende Erfindung ein Aggregat mit blattartiger Struktur bereit sowie mit linearer, zyklischer, polzyklischer, polyedrischer, kugelförmiger oder dendritischer Struktur bereit. Die Aggregate können aus zwei oder mehreren verschiedenen Verbindungen der allgemeinen Formel (I) bestehen.

Die vorliegende Erfindung stellt auch Verbindungen der allgemeinen Formel (III) bereit. Die Verbindungen der allgemeinen Formel (III) entsprechen denjenigen der Formel (II), wobei alle terminalen Gruppen R für ein Wasserstoffatom stehen. Diese Verbindungen können mit den oben beschriebenen Verbindungen der allgemeinen Formel (I) eingesetzt werden, um die Eigenschaften der Aggregate zu verändern.

Speziell stellt die vorliegende Erfindung eine Verbindung der allgemeinen Formel (III) bereit,

$X(B)_m$ (III)

wobei

- X für eine m-wertige Einheit steht und die
- B gleich oder verschieden sind und für K-H stehen,

wobei

K für $A^1 - (A^2 - A^3)_k - sp$

steht, wobei

A^1 für $(CH_2)_t Y(CH_2)_u$ steht, wobei

Y für $>C=O$, $>NH$, $-O-$, $-S-$ oder eine Bindung,

t für eine ganze Zahl von 0 bis 6 und

u für eine ganze Zahl von 0 bis 6 steht,

A^2 für $-NHCO-$, $-CONH-$, $-OCONH-$ oder $SCONH-$ steht,

A^3 für $(CH_2)_r$, $O(CH_2)_r$, $NH(CH_2)_r$, $S(CH_2)_r$, oder $-(CHQ)-$ steht, wobei

r für eine ganze Zahl von 1 bis 6 und

Q für eine substituierte oder unsubstituierte Alkyl- oder Aryl- Gruppe steht,

sp für einen zweiwertigen Spacer oder eine Bindung steht, und

k für eine ganze Zahl von 5 bis 100 steht, und

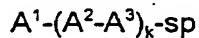
m mindestens 2 ist,

mit der Maßgabe, dass

- (1) X, die B und m so gewählt sind, dass eine intermolekulare Assoziation der K in flüssiger Phase, insbesondere unter wässrigen Bedingungen, durch Bildung von Wasserstoffbrücken-Bindungen unter Ausbildung von Aggregaten möglich ist, und
- (2) die Molmasse des Fragments $X(K)_m$ weniger als 20.000, insbesondere weniger als 4000, beträgt.

In der Verbindung der Formel (III) kann A² auch -CO- bedeuten.

In einer bevorzugten Ausführungsform steht K in der Formel (III) für



wobei

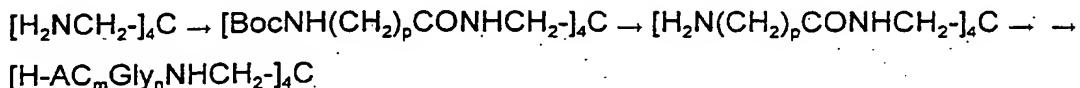
- A¹ für $(CH_2)_tY(CH_2)_u$ steht, wobei
 - Y für >C=O, >NH, -O-, -S- oder eine Bindung,
 - t für eine ganze Zahl von 0 bis 6 und
 - u für eine ganze Zahl von 0 bis 6 steht,
- A² für -NHCO-, -CONH-, -OCONH- oder SCONH- steht,
- A³ für $(CH_2)_r$, O(CH_2)_r, NH(CH_2)_r, S(CH_2)_r, oder
-(CHQ)- steht, wobei
 - r für eine ganze Zahl von 1 bis 6 und
 - Q für eine substituierte oder unsubstituierte Alkyl- oder Aryl- Gruppe steht,
- sp für einen zweiwertigen Spacer oder eine Bindung steht, und
- k für eine ganze Zahl von 5 bis 100 steht.

Jetzt wird die Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formel (I) beschrieben.
Entsprechend dieser Herstellungsweise können auch die Verbindungen der Formel

(III) hergestellt werden.

Die Synthese der Verbindungen der allgemeinen Formel (I) wird vorteilhafterweise jeweils ausgehend von den entsprechenden Tetraminen durch sukzessive Kettenverlängerung durchgeführt (Schema 1). Hierbei werden bekannte Methoden aus der Peptid-Chemie angewendet, wobei als N-Schutzgruppe die Boc-Gruppe verwendet wird. Die Amidbindungen werden vorzugsweise mit der Aktiv-Ester-Methode gebildet.

Schema 1



p = 1 oder 6, n = 0 bis 7, m = 0 bis 3

Die terminalen Gruppen werden vorteilhafterweise ebenfalls über die Aktiv-Ester-Methode an die gemäss Schema 1 synthetisierten Verbindungen der allgemeinen Formel (I) geknüpft (Schema 2).

Schema 2



Sug-sp- =	Neu5Ac α 2-OCH ₂ (<i>p</i> -C ₆ H ₄)NHCOCH ₂ NH-	(Neu5Ac-Gab-)
	Neu5Ac α 2-O(CH ₂) ₃ NH-	(Neu5Ac-Ap-)
	Neu5Ac α 2-3Gal β 1-4Glc β 1-NHCOCH ₂ NH-	(3'SL-NHCOCH ₂ NH ₂ -)
	Gal α 1-3Gal β 1-O(CH ₂) ₃ NH-	(B _{di} -Ap-)

Jetzt wird die Bildung der Aggregate in Einzelheiten und anhand der Figuren beschrieben. Es zeigen

Fig. 1 Elutionsprofile der Aggregate {[Neu5Ac-Gab-AC_m-Ad-Gly₅-NHCH₂]₄C}_x, HPLC, TSK-4000, 0.2M NaCl;

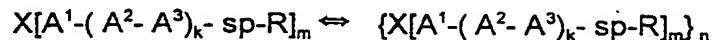
Fig. 2 die relative Partikelgrößenverteilung des Aggregats {[Neu5Ac-Gab-Ad-AC₃-

$\text{Gly}_5\text{-NHCH}_2\text{-}]_4\text{C}\}_{x, 20^\circ\text{C H}_2\text{O};}$

Fig. 3 den Einfluss der Temperatur und der Anwesenheit von Harnstoff auf die Partikelgrösse des Aggregats $\{[\text{Neu5Ac-Gab-Ad-Gly}_7\text{-NHCH}_2\text{-}]_4\text{C}\}_x$

Die Aggregate sind hochmolekulare nicht-kovalente Polymere, die durch Selbstassoziation von Verbindungen der allgemeinen Formel (I) entstehen (Schema 3).

Schema 3



Diese intermolekulare Assoziation verläuft spontan und führt zur Bildung von stabilen und geordneten Strukturen. Der Verlauf dieses Prozesses hängt von der molekularen Struktur der eingesetzten Verbindungen der allgemeinen Formel (I) und von den äusseren Bedingungen ab. Die Molmassen, Größen und Formen der hierbei gebildeten Aggregate werden ebenfalls von diesen Faktoren bestimmt.

Die nicht-kovalente Natur der Bindungen zwischen den Verbindungen der allgemeinen Formel (I) bedingt die Reversibilität der Aggregatbildung und ermöglicht bei einer Veränderung der äusseren Bedingungen eine Dissoziation der Aggregate zu Verbindungen der allgemeinen Formel (I) oder ihre Umwandlung in andere Aggregate, jeweils im Sinne der Bildung der thermodynamisch stabilsten Strukturen.

Die Selbstassoziation von Verbindungen der allgemeinen Formel (I) zu Aggregaten kann sowohl in Lösungen als auch auf Oberflächen beobachtet werden.

Mittels Raster-Tunnel-Mikroskopie (STM) und Atomkraft-Mikroskopie wurde gezeigt, dass das Aggregat $\{[\text{Neu5Ac-Gab-Ad-Gly}_7\text{-NHCH}_2\text{-}]_4\text{C}\}_x$ auf einer Graphit-Unterlage geordnete Kettenstrukturen ausbildet.

Die Bildung von Aggregaten in Lösungen kann durch Lichtstreuungs-Experimente oder Gelpermeations-Chromatographie beobachtet werden.

Die Verbindung der allgemeinen Formel (I) Neu5Ac-Gab-AC_m-Ad-Gly₅-NHCH₂-]₄C (m=1-3) assoziiert bei Raumtemperatur in wässrigen und organischen Lösungsmitteln. Die Untersuchung der in Wasser gebildeten Assoziate mittels Gelpermeations-Chromatographie zeigte die Bildung von Aggregaten mit Molekulargewichten von ca. 2000 kD, wie es in Figur 1 gezeigt wird.

Die Untersuchung der Assoziation der Verbindung der allgemeinen Formel (I) [Neu5Ac-Gab-Ad-AC₃-Gly₅-NHCH₂-]₄C in Wasser bei 20°C zeigte die Bildung von drei Typen von Aggregaten mit Partikelgrößen zwischen 25 und 2000nm (Figur 2). Beim Erwärmen der Probe auf 60°C wurde eine Abnahme des relativen Anteils der kleineren Partikel beobachtet, wobei gleichzeitig der relative Anteil der grösseren Partikel zunahm und die Gesamtanzahl der Teilchen abnahm. Eine Zunahme der Aggregat-Grösse mit der Temperatur wurde auch bei der Verbindung der allgemeinen Formel (I) (48) beobachtet. Diese Verbindung bildet in Wasser bei 60°C Teilchen mit Größen bis zu 8000nm (Figur 3).

Zu den äusseren Bedingungen, die die Bildung der Aggregate und den Verlauf der intermolekularen Assoziation bestimmen, zählen neben der Temperatur, der pH-Wert und die Art und Zusammensetzung des Lösungsmittels. Durch Lichtstreuungs-Untersuchungen wurde gezeigt, dass die Verbindung [HCl-H-Gly₇-NHCH₂-]₄C (22a) in Wasser bei 20°C in nicht-assozierter Form vorliegt, jedoch durch Zugabe einer 0.8 M NaHCO₃-Lösung eine Selbstassoziation der Verbindung erreicht wird. Durch Zugabe von HCl kann dann anschließend die Assoziation wieder rückgängig gemacht werden (vgl. Beispiel 9).

Die Bildung von Aggregaten wird auch durch die Anwesenheit von Komponenten beeinflusst, welche mit den Verbindungen der allgemeinen Formel (I) Wechselwirkungen eingehen können. Dies können organische Moleküle sein, wie z. B.

Verbindungen der Formel (III), Harnstoff (Abbildung 3), Trifluorethanol, Methanol, Aceton oder andere organische Lösungsmittel. Es können auch andere Verbindungen der allgemeinen Formel (I) bzw. (III) sein, die für sich alleine - unter den gegebenen Bedingungen - keine Assoziate ausbilden.

Bei Verbindungen der allgemeinen Formel (I) und Aggregaten wird der Prozess der Selbstassoziation auch durch die Wechselwirkungen zwischen den Liganden und den entsprechenden Rezeptoren beeinflusst. Dieser Einfluss kann z. B. darin bestehen, dass erst durch die Anwesenheit der Rezeptoren eine Assoziation von Verbindungen der allgemeinen Formel (I) hervorgerufen wird, und zwar unter Bedingungen bei denen sonst keine Assoziation dieser Verbindungen stattfinden würde. Durch die Reversibilität der Aggregatbildung ist es ebenso möglich, dass sich Aggregate in Anwesenheit von Rezeptoren unter Umlagerung oder Veränderung der Zusammensetzung so verändern, dass ein thermodynamisch günstiger Zustand des Gesamtsystems aus Aggregat und Rezeptor erreicht wird. Die Aggregate können sich daher an unterschiedliche Rezeptoranordnungen anpassen und so eine Wechselwirkung zwischen den Rezeptoren und Liganden optimieren. Diese Optimierung durch nachträgliche Anpassung der polyvalenten Wechselwirkungen stellt einen wesentlichen Vorteil gegenüber dem Stand der Technik dar.

Jetzt werden spezielle biologisch aktive Aggregate beschrieben. Durch die Selbstassoziation von Verbindungen der allgemeinen Formel (I) mit biologisch aktiven Liganden entstehen biologisch aktive Aggregate, die als hocheffektive multivalente Inhibitoren von biologischen Erkennungsprozesse wirken. Die spezifische Aktivität eines solchen Inhibitors ist abhängig von der Affinität der terminalen Gruppen R, aber auch von der "Matrix" des Aggregats, d. h. der Struktur der als Träger verwendeten Verbindung der allgemeinen Formel (I).

Die Tabellen 2 und 3 zeigen den Einfluss der Matrix-Struktur auf die Inhibition der viralen Zelladhäsion von Influenza-Viren, gemessen in einem dem Fachmann bekannten Fetuin-Binding Assay. Dabei wird die Verstärkung der spezifischen Aktivität

des Inhibitors um mehr als drei Größenordnungen gegenüber der Aktivität des freien Liganden Neu5Ac α Bn im Falle des Aggregats {[Neu5Ac-Gab-Ad-AC₃-Gly₅-NHCH₂-]₄C}_x (**44**) deutlich.

Tabelle 1

Inhibition der viralen Zelladhäsion von Influenza Viren, Stamm A/NIB/44/90M H3N2, FBI-test, Neu5Ac α Bn als a Referenz-Verbindung, spezifische Aktivität pro Neu5Ac-Gruppe

Inhibitor	Relative Aktivität
Neu5Ac α -OBn	1
[Neu5Ac-Gab-Ad-Gly _n -NHCH ₂ -] ₄ C (n=0-5)	2
[Neu5Ac-Ap-Ad-Gly _n -NHCH ₂ -] ₄ C (n=3-5)	1
[Neu5Ac-Gab-Ad-GlyGluGly-NHCH ₂ -] ₄ C	5
[Neu5Ac-Gab-AC-Ad-Gly ₅ -NHCH ₂ -] ₄ C	15
[Neu5Ac-Gab-AC ₂ -Ad-Gly ₅ -NHCH ₂ -] ₄ C	330
[Neu5Ac-Gab-AC ₃ -Ad-Gly ₅ -NHCH ₂ -] ₄ C	1000
[Neu5Ac-Gab-Ad-AC ₂ -Gly ₅ -NHCH ₂ -] ₄ C	1000
[Neu5Ac-Gab-Ad-AC ₃ -Gly ₅ -NHCH ₂ -] ₄ C	2500

Tabelle 2

Inhibition der viralen Zelladhäsion von Influenza Viren Inhibition of Stamm A/Duck/Alberta/60/67 H12N5, FBI-test, 3'SL als a Referenz-Verbindung, spezifische Aktivität pro 3'SL-Gruppe

Inhibitor	Relative Aktivität
3'SL	1
[3'SL-NHCOCH ₂ NH-Ad-Gly ₅ -NHCH ₂ -] ₄ C	20
[3'SL-NHCOCH ₂ NH-Ad-Gly ₇ -NHCH ₂ -] ₄ C	200

Ein weiteres Beispiel für die Erhöhung der biologischen Aktivität eines biologischen Liganden durch seine Bindung an ein Aggregat ist die Verbindung {[B_d-Ap-Ad-AC₃-Gly₅-NHCH₂-]₄C}_x (49) als Inhibitor der Zytotoxizität von menschlichen Blutseren gegenüber der Schweinenieren-Nieren-Zellen PK15. Das Aggregat (49) zeigt eine um drei Größenordnung höhere spezifische Aktivität als der freie Ligand Gal α 1-3Gal (B-disaccharid).

Verwendete Abkürzungen:

Np para-Nitrophenyl

NOS N-Oxysuccinimidyl

Boc tert-Butyloxycarbonyl

AC	6-Aminocaproyl
Ad	1,6-Hexandioyl
Ap	3-Aminopropyl
Gab	4-(Glycylamido)-benzyl
Sug	Kohlenhydratrest
SL	Sialyllactose
Bn	Benzyl
LC	Säulenchromatographie
DC	Dünnschichtchromatographie

Jetzt wird die Erfindung anhand von Beispielen in weiteren Einzelheiten beschrieben.

Materialien und Methoden:

^1H -NMR Spektren (δ , ppm, TMS) wurden mit einem Spektrometer des Typs WM-500 der Firma Bruker (USA) bei 303°K aufgenommen.

Massenspektren wurden mit einem Flugzeit-Spektrometer des Typs MSBCh (Sumy, Ukraine) aufgenommen (Ionisation durch Spaltprodukte von Californium-252 bei einer Beschleunigungsspannung von +15 eV).

Die Lichtstreuungs-Experimente wurden mit folgenden Geräten durchgeführt:
Coultronics Coulter N4-MD (He-Ne Laser, $\lambda=632.8$ nm, Messung der Streuung bei einem Winkel von 62.5° zum eintretenden Lichtstrahl), Spectra-Physics 164 (Argon Laser, $\lambda=528.7$ nm und $\lambda=611.5$ nm, Messung der Streuung bei einem Winkel von 90° zum eintretenden Lichtstrahl).

Kieselgel 60 (40-63 μm) (Merck) wurde für Säulenchromatographie verwendet. Sephadex der Typen LH-20, G-10, G-25 (Pharmacia, Schweden) und TSK-4000 (HPLC) wurden für Gelpermeations-Chromatographie gebraucht.

Für DC wurden Kieselgel 60 (Merck) und Kieselgel 60 Glassplatten mit Fluoreszenz-

Indikator F254 (Merck) verwendet. Zur Detektion der Flecken auf den DC-Platten wurden folgende Methoden verwendet:

- Erwärmen nach Besprühen mit einer 7%igen H_3PO_4 -Lösung (Kohlenhydratverbindungen);
- Erwärmen nach Besprühen mit einer 2%igen Ninhydrin-Lösung in Ethanol (Verbindungen mit primären Aminogruppen);
- Erwärmen nach einer Verweilzeit von 10 Minuten in einer Kammer über konz. HCl und anschliessenden Besprühen mit einer 2%igen Ninhydrin-Lösung in Ethanol (Verbindungen mit Boc-geschützten Aminogruppen);
- Verweilzeit von 10 Minuten in einer Kammer über konz. NH_3 (4-Nitrophenylester);
- Betrachten der Platten unter UV.

Für DC wurden folgende Eluenten-Systeme verwendet:

- A - Toluol/Ethylacetat 2:1
- B - Aceton/Ethylacetat/Methanol 10:4:1
- C - $CHCl_3$ /MeOH 7:1
- D - $CHCl_3$ /Ethylacetat/MeOH/AcOH 9:3:2:0,2
- E - iPrOH/Ethylacetat/ H_2O 2:3:1
- F - EtOH/ NH_3 (aq) 2:1
- G - iPrOH/Ethylacetat/ H_2O 4:3:2
- H - iPrOH/Aceton/ H_2O 4:3:2

Herstellung bekannter Ausgangsverbindungen

Tetrakis-(aminomethyl)-methan-tetrahydrochlorid (1)

wurde analog der Literatur hergestellt (E. B. Fleischer, A.E. Gebala, A. Levey, P.A. Tasker, *J.Org.Chem.*, **36**, 3042, 1971).

DC: R_f =0,6; Eluent - 25% Ammoniak/Wasser; Entwickler - Ninhydrin.

Schmp. >300°C.

1H NMR-Spektrum in D_2O (δ , ppm): 3,45 (s, CH_2).

4-Nitrophenyl-trifluoracetat (2)

wurde analog der Literatur hergestellt (S. Sakakibara, N. Inukai, *Bull. Chem. Soc. Jap.*, 37, 1231, 1964).

Di-(4-Nitrophenyl)-adipat (3)

wurde analog der Literatur hergestellt (S. Sakakibara, N. Inukai, *Bull. Chem. Soc. Jap.*, 37, 1231, 1964).

$R_f = 0,76$, Eluent D A.

^1H NMR-Spektrum in CDCl_3 (δ , ppm): 1,871 (m, 4H, 2 COCH_2CH_2), 2,666 (m, 4H, 2 COCH_2), 7,255 und 8,240 (m, 8H, $J_{2,3}$ 9Hz, Ar).

Methyl [4-(tert-butyloxycarbonyl-glycilmido)benzyl 5-acetamido-4,7,8,8-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy- α -D-glycero-D-galakto-nonulopyranosid]oat $\text{Ac}_4(\text{OMe})\text{Neu5Ac-Gab-Boc}$ (4)

wurde analog der Literatur hergestellt (US Patent 5,571,836, 1996).

^1H NMR-Spektrum (CDCl_3 , δ , ppm): 1,448 (s, 9H, CMe_3), 1,849, 1,994, 2,008, 2,111, 2,127 (s, 5x3H, 5 Ac), 1,979 (dd, 1H, $H-3_{ax}$ Neu5Ac), 2,613 (dd, 1H, J_4 4,6 Hz, J_{3ax} 12,9 Hz, $H-3_{eq}$ Neu5Ac), 3,637 (s, 3H, COOCH_3), 3,882 (d, 2H, J 6 Hz, COCH_2NH), 4,058 (ddd, 1H, $H-5$ Neu5Ac), 4,074 (dd, 1H, J_{5b} 12,5 Hz, J_8 5,9 Hz, $H-9a$ Neu5Ac), 4,112 (dd, 1H, J_5 10,6, J_7 2,3 Hz, $H-6$ Neu5Ac), 4,299 (dd, 1H, J_{9b} 12,5 Hz, J_8 2,7 Hz, $H-9b$ Neu5Ac), 4,366 und 4,735 (d, 2x1H, J 12 Hz, OCH_2Ar), 4,847 (ddd, 1H, J_5 10 Hz, J_{3ax} 12,3 Hz, J_{3eq} 4,6 Hz, $H-4$ Neu5Ac), 5,24 (verb., 1H, NHBoc), 5,251 (d, 1H, J_5 9,8 Hz, NH), 5,314 (dd, 1H, J_6 2,3 Hz, J_8 8,2 Hz, $H-7$ Neu5Ac), 5,424 (ddd, 1H, $H-8$ Neu5Ac), 7,258 und 7,445 (d, 2x2H, J 8,4 Hz, Ar), 8,144 (verb. s, 1H, NHArc).

 $\text{Neu5Acc}2\text{-3Gal}\beta1\text{-4Glc}\beta\text{-NHCOCH}_2\text{NH}_2$ (12)

wurde analog der Literatur hergestellt (L.M. Likhosherstov, O.S. Novikova, V.A. Derevitskaja, N.K. Kochetkov, *Carbohydrate Research*, 146, C1-C5, 1986; und I.D. Manger, T.W. Rademacher, R.A. Dwek, *Biochemistry*, 31, 10724, 1992).

$^1\text{H-NMR}$ Spektrum (D_2O , δ , ppm): 1,82 (dd, 1H, $H-3_{ax}$ Neu5Ac, J_4 12 Hz), 2,06 (s, 3H, NAc), 2,79 (dd, 1H, $H-3_{eq}$ Neu5Ac, J_{3ax} 12,4 Hz, J_4 4,6 Hz), 3,48 (m, 1H, $H-2$ Glc, J_3 9 Hz), 3,61 (dd, 1H, $H-2$ Gal), 3,99 (dd, 1H, $H-4$ Gal), 4,14 (dd, 1H, $H-3$ Gal, J_2 9,8 Hz, J_4 3,1 Hz), 4,57 (d, 1H, $H-1$ Gal, J_2 7,8 Hz), 5,09 (d, 1H, $H-1$ Glc, J_2 9,3 Hz).

Gal α 1-3Gal β -O(CH₂)₃NH₂ (13)

wurde analog der Literatur hergestellt (E. Yu. Korchagina, N. V. Bovin, *Bioorganicheskaya Khimiya*, 1992, **18**, 283, Rus).

Die Verbindungen *BocGlyNOS*, *BocGlyGlyNOS* und *BocAC-ONp* wurde unter Verwendung von N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid analog der Literatur hergestellt (G. W. Anderson, J. E. Zimmerman, F. M. Callahan, *J. Amer. Chem. Soc.*, **86**, 1839, 1964; M. Bodanszky, V. du Vigneaud, *J. Amer. Chem. Soc.*, **81**, 5688, 1959).

Beispiel 1.**Herstellung von Ac₄(OMe)Neu5Ac-Gab-AC-Boc (5):**

Zu 0,5mM der Verbindung (**4**) wurden 10ml CHCl₃ und 2ml CF₃COOH zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt, mit 2ml Toluol versetzt, im Vakuum eingedampft und getrocknet. Der Rückstand wurde in 10ml CHCl₃ gelöst und mit 1,5mM 6-N-Boc-Amino-(4-nitrophenyl)-hexanoat und 0,3ml NEt₃ versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und im Vakuum eingedampft. Der erhaltene Rückstand wurde über Kieselgel chromatographiert.

Die Verbindungen Ac₄(OMe)Neu5Ac-Gab-AC₂-Boc (**6**) und Ac₄(OMe)Neu5Ac-Gab-AC₃-Boc (**7**) wurden auf analoge Weise hergestellt (siehe Tabelle 4).

Tabelle 3 (Beispiel 1)

Produkt	Ausgangsverbindung	DC: Eluent A, R _f	Säulenchromatographie	Ausbeute, %
Ac ₄ (OMe)Neu5Ac-Gab-AC-Boc (5)	(4)	0.6	CHCl ₃ /MeOH 35:1 - 10:1	90
Ac ₄ (OMe)Neu5Ac-Gab-AC ₂ -Boc (6)	(5)	0.45	Aceton/Ethylacetat/MeOH 10:4:0.5 - 10:4:3	72
Ac ₄ (OMe)Neu5Ac-Gab-AC ₃ -Boc (7)	(6)	0.25	Aceton/Ethylacetat/MeOH 10:4:1 - 10:4:5	70

¹H NMR-Spektren (CDCl_3 , δ , ppm):

Ac₄(OMe)Neu5Ac-Gab-AC-Boc (5): 1,331, 1,468, 1,655 (m, 3CH₂), 1,402 (s, 9H, CMe₃), 2,264 (t, 2H, J 7,5 Hz, CH₂CONHCH₂CO), 3,066 (m ~ quadr, 2H, J 6,6 Hz, CH₂NHBoc), 4,060 (d, 2H, J 5 Hz, COCH₂NH), 4,364 und 4,733 (d, 2x1H, J 12 Hz, OCH₂Ar), 4,571 (verb., 1H, NH_{Boc}), 6,521 (verb., 1H, COCH₂NHCO), 7,253 und 7,460 (d, 2x2H, J 8,4 Hz, Ar), 8,547 (verb. s, 1H, NH_{Ar}).

Neu5Ac α -Fragment (s. (4)).

Ac₄(OMe)Neu5Ac-Gab-AC₂-Boc (6): 1,280, 1,338, 1,447, 1,482, 1,582, 1,655, 2,107 (m, 7CH₂), 1,403 (s, 9H, CMe₃), 2,276 (t, 2H, J 7,2 Hz, CH₂CONHCH₂CO), 3,060 (m ~ quadr, 2H, J 6,6 Hz, CH₂NHBoc), 3,216 (m ~ quadr, 2H, J 6,4 Hz, CH₂NH), 4,040 (d, 2H, J 5 Hz, COCH₂NH), 4,353 und 4,728 (d, 2x1H, J 12 Hz, OCH₂Ar), 4,651 (verb., 1H, NH_{Boc}), 5,793 (t, 1H, J 5 Hz, CH₂NHCO), 6,714 (verb., 1H, COCH₂NHCO), 7,245 und 7,467 (d, 2x2H, J 8,4 Hz, Ar), 8,666 (verb. s, 1H, NH_{Ar}): Neu5Ac α -Fragment (s. (4)).

Ac₄(OMe)Neu5Ac-Gab-AC₃-Boc (7): 1,283, 1,336, 1,447, 1,482, 1,594, 1,655, 2,117 (m, 11CH₂), 1,401 (s, 9H, CMe₃), 2,282 (t, 2H, J 7,2 Hz, CH₂CONHCH₂CO), 3,045 (m ~ quadr, 2H, J 6,6 Hz, CH₂NHBoc), 3,214 (m ~ quadr, 4H, J 6,4 Hz, CH₂NH), 4,040 (d, 2H, J 5 Hz, COCH₂NH), 4,353 und 4,728 (d, 2x1H, J 12 Hz, OCH₂Ar), 4,669 (verb., 1H, NH_{Boc}), 5,876 (t, 1H, J 5,5 Hz, CH₂NHCO), 6,071 (verb., 1H, CH₂NHCO), 6,940 (verb., 1H, COCH₂NHCO), 7,242 und 7,483 (d, 2x2H, J 8,4 Hz, Ar), 9,033 (verb. s, 1H, NH_{Ar}). Neu5Ac α -Fragment (s. (4)).

Beispiel 2.

Herstellung von Ac₄(OMe)Neu5Ac-Gab-AC-Ad-ONp (9).

Zu 0,5mM der Verbindung (5) wurden 10ml CHCl_3 und 2ml CF_3COOH zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt, mit 5ml Toluol versetzt, im Vakuum eingedampft und getrocknet. Der Rückstand wurde in 15ml Tetrahydrofuran gelöst und mit 5mM der Verbindung (3) und 0,3 ml NEt₃ versetzt und 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das überschüssige NEt₃ wurde mit CH_3COOH neutralisiert, und das Reaktionsgemisch eingedampft. Der Rückstand wurde in CHCl_3 gelöst, die erhaltene Lösung wurde mit Wasser gewaschen und eingedampft. Das erhaltene Gemisch wurde über eine Kieselgelsäule chromatographiert (siehe Tabelle 4).

Die Verbindungen Ac₄(OMe)Neu5Ac-Gab-Ad-ONp (8), Ac₄(OMe)Neu5Ac-Gab-AC₂-

Ad-ONp (10) und **Ac₄(OMe)Neu5Ac-Gab-AC₃-Ad-ONp (11)** wurden auf analoge Weise hergestellt (siehe Tabelle 4).

Tabelle 4 (Beispiel 2)

Produkt	Ausgangsverbindung	DC: Eluent C, R _f	Säulenchromatographie	Ausbeute %
Ac₄(OMe)Neu5Ac-Gab-Ad-ONp (8)	(4)	0,6	CHCl ₃ /i-PrOH 20:1	78
Ac₄(OMe)Neu5Ac-Gab-AC-Ad-ONp (9)	(5)	0,55	CHCl ₃ /MeOH/AcOH 35:1:0,2 – 15:1:0,2	65
Ac₄(OMe)Neu5Ac-Gab-AC₂-Ad-ONp (10)	(6)	0,48	CHCl ₃ /MeOH/AcOH 35:1:0,2 – 15:1:0,2	60
Ac₄(OMe)Neu5Ac-Gab-AC₃-Ad-ONp (11)	(7)	0,43	CHCl ₃ /MeOH/AcOH 35:1:0,2 – 15:1:0,2	62

¹H NMR-Spektren:

Ac₄(OMe)Neu5Ac-Gab-Ad-ONp (8) (CDCl₃, δ, ppm): 1,774 (m, 2H, CH₂CH₂COO), 1,843, 1,984, 2,00, 2,100, 2,117 (s, 5x3H, 5 Ac), 1,966 (dd, 1H, H-3_{ax} Neu5Ac), 2,335 und 2,393 (m, 2x1H, CH₂CH₂CONH), 2,601 (t, 2H, J 6Hz, CH₂CH₂COO), 2,604 (dd, 1H, H-3_{eq} Neu5Ac), 3,645 (s, 3H, COOCH₃), 3,688 (t, 2H, J 4,7Hz, CH₂CH₂CONH), 4,049 (ddd, 1H, H-5 Neu5Ac), 4,062 (dd, 1H, J₈ 6_Hz, H-9a Neu5Ac), 4,074 (d, 2H, J_{NH} 5,5Hz, COCH₂NHCO), 4,111 (dd, 1H, J₅ 10,7, J₇ 2,3Hz, H-6 Neu5Ac), 4,298 (dd, 1H, J_{9b} 12,5Hz, J₈ 2,9Hz, H-9b Neu5Ac), 4,343 und 4,722 (d, 2x1H, J 12Hz, OCH₂Ar), 4,839 (ddd, 1H, J₅ 10,2Hz, J_{3ax} 12,3Hz, J_{3eq} 4,6Hz, H-4 Neu5Ac), 5,307 (dd, 1H, J₈ 8,4Hz, J₆ 2,3Hz, H-7 Neu5Ac), 5,359 (d, 1H, J₅ 9,7Hz, NH), 5,406 (ddd, 1H, H-8 Neu5Ac), 6,616 (t, 1H, COCH₂NHCO), 7,243 und 7,450 (d, 2x2H, J 8,5Hz, p-C₆H₄NH), 7,221 und 8,208 (d, 2x2H, J 9Hz, p-C₆H₄NO₂), 8,586 (s, 1H, NHAr).

Ac₄(OMe)Neu5Ac-Gab-AC-Ad-ONp (9) (CDCl₃, δ, ppm): 1,341 (m, 2H, COCH₂CH₂CH₂CH₂NH), 1,495 und 1,666 (m, 2x2H, COCH₂CH₂CH₂CH₂NH), 1,729 (m, 2H, CH₂CH₂COO), 1,856, 1,991, 2,010, 2,110 und 2,129 (s, 5x3H, 5 Ac), 1,976 (dd, 1H, H-3_{ax} Neu5Ac), 2,138, 2,175 (m, 2x1H, CH₂CH₂CONH), 2,182 und 2,267 (t, 2x2H, 2 CH₂CONH), 2,601 (~t, 2H, J 6,8Hz, CH₂CH₂COO), 2,611 (dd, 1H, J_{3ax} 12,8, J₄ 4,5Hz, H-3_{eq} Neu5Ac), 3,228 (m ~ quadr, 2H, J 6,6Hz, CH₂NHCO), 3,645 (s, 3H, COOCH₃), 4,022 (d, 2H, J_{NH} 5,4Hz, COCH₂NHCO), 4,050 (ddd, 1H, H-5 Neu5Ac), 4,065 (dd, 1H, J₈ 6Hz, H-9a Neu5Ac), 4,113 (dd, 1H, J₅ 10,8, J₇ 2,3Hz, H-6 Neu5Ac), 4,295 (dd, 1H, J_{9a} 12,5Hz, J₈ 2,9Hz, H-9b Neu5Ac), 4,357 und 4,732 (d, 2x1H, J 12Hz, OCH₂Ar), 4,848 (ddd, 1H, J₅ 10Hz, J_{3ax} 12,2Hz, J_{3eq} 4,5Hz, H-4 Neu5Ac), 5,170 (d, 1H, J₅ 10Hz, NH), 5,308 (dd, 1H, J₈ 8,6Hz, J₆ 2,3Hz, H-7 Neu5Ac), 5,413 (ddd, 1H, H-8 Neu5Ac), 5,708 (t, 1H, CH₂CH₂NHCO), 6,483 (t, 1H, COCH₂NHCO), 7,251 und 7,427 (d, 2x2H, J 8,7Hz, p-C₆H₄NH), 7,243 und 8,224 (d, 2x2H, J 9Hz, p-C₆H₄NO₂), 8,298 (s, 1H, NHAr).

Ac₄(OMe)Neu5Ac-Gab-AC₂-Ad-ONp (10) (D₆-DMSO, δ, ppm): 1,231, 1,376, 1,485 und 1,608 (m, CH₂), 1,757 (dd, 1H, H-3_{ax} Neu5Ac), 1,678, 1,917, 1,974, 2,023 und 2,092 (s, 5x3H, 5 Ac), 2,570 (dd, 1H, J_{3ax} 12,4, J₄ 4,5Hz, H-3_{eq} Neu5Ac), 2,638 (t, 2H, J 7Hz, CH₂CH₂COO), 3,009 (m, 4H, 2CH₂NHCO), 3,699 (s, 3H, COOCH₃), 3,859 (d, 2H, J_{NH} 5,9Hz, COCH₂NHCO), 3,904 (ddd, 1H, H-5 Neu5Ac), 4,027 (dd, 1H, J₈

6,2Hz, H-9a Neu5Ac), 4,089 (dd, 1H, J_5 10,8, J_7 2,6Hz, H-6 Neu5Ac), 4,235 (dd, 1H, J_{9a} 12,4Hz, J_8 3,1Hz, H-9b Neu5Ac), 4,322 und 4,645 (d, 2x1H, J 11,7Hz, OCH_2Ar), 4,715 (ddd, 1H, J_5 10Hz, J_{3ax} 12Hz, J_{3eq} 4,5Hz, H-4 Neu5Ac), 5,193 (dd, 1H, J_8 8,4Hz, J_6 2,Hz, H-7 Neu5Ac), 5,341 (ddd, 1H, H-8 Neu5Ac), 7,216 und 7,554 (d, 2x2H, J 8,4Hz, $p\text{-C}_6\text{H}_4\text{NH}$), 7,433 und 8,296 (d, 2x2H, J 9,2Hz, $p\text{-C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 7,674 (t, 1H, J 5,5Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCO}$), 7,706 (d, 1H, J_5 9,8Hz, NH), 7,754 (t, 1H, J 5,8Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCO}$), 8,081 (t, 1H, J 5,9Hz, COCH_2NHCO), 9,961 (s, 1H, NHAr).

$\text{Ac}_4(\text{OMe})\text{Neu5Ac-Gab-AC}_3\text{-Ad-ONp}$ (11) ($\text{D}_6\text{-DMSO}$, δ , ppm): 1,214, 1,360, 1,478, 1,609 (m, CH_2), 2,639 (t, 2H, J 7Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}$), 2,999 (m, 6H, 3 CH_2NHCO), 3,864 (d, 2H, J_{NH} 5,9Hz, COCH_2NHCO), 4,324 und 4,645 (d, 2x1H, J 11,7Hz, OCH_2Ar), 7,212 und 7,568 (d, 2x2H, J 8,4Hz, $p\text{-C}_6\text{H}_4\text{NH}$), 7,435 und 8,295 (d, 2x2H, J 9,2Hz, $p\text{-C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 7,700 (m, 2H, 2 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCO}$), 7,750 (t, 1H, J 5,8Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCO}$); 8,122 (t, 1H, J 5,9Hz, COCH_2NHCO), 10,047 (s, 1H, NHAr), Neu5Aca-Fragment: s. (10).

Beispiel 3.

Herstellung von

$\text{Neu5Ac}\alpha\text{2-3Gal}\beta\text{1-4Glc}\beta\text{-NHCOCH}_2\text{NHCO}(\text{CH}_2)_4\text{COO}(4\text{-C}_6\text{H}_4\text{NO}_2)$ (14).

119mg (0,172mM) der Verbindung (12) in 0,5ml DMSO wurde unter Rührung zu einer Lösung von 334mg (0,86mM) der Verbindung (3) in 2ml DMF zugegeben. Das Gemisch wurde 24 Stunden bei 20°C gerührt. Nach Zugabe von 200µl AcOH wurde das Reaktionsgemisch mit 15ml Wasser verdünnt. Die Lösung wurde filtriert und das Filtrat wurde auf ein Volumen von ~2ml eingedampft. Der Rückstand wurde auf eine Sephadex LH-20 Säule (1,5x50cm) gegeben und mit MeCN/H₂O (1:1, 0,2% AcOH) eluiert. Nach Isolation wurden 140mg (14) erhalten, entsprechend einer Ausbeute von 87%. DC: R_f 0,41 (Eluent H).

¹H-NMR Spektrum (D_2O , δ , ppm): 1,737 (m, 1H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 1,779 (dd, 1H, H-3_{ax} Neu5Ac, J_4 12,5 Hz), 2,003 (s, 3H, NAc), 2,383 (t, 1H, J 7 Hz, CH_2CO), 2,733 (dd, 1H, H-3_{eq} Neu5Ac, J_{3ax} 12,5 Hz, J_4 4,5 Hz), 3,432 (m, 1H, H-2 Glc, J_3 9 Hz), 3,556 (dd, 1H, H-2 Gal), 3,933 (dd, 1H, H-4 Gal), 4,090 (dd, 1H, H-3 Gal, J_2 10 Hz, J_4 3 Hz), 4,499 (d, 1H, H-1 Gal, J_2 8 Hz), 4,985 (d, 1H, H-1 Glc, J_2 9 Hz).

Die Verbindung Neu5Ac-Gab-Ad-ONp (15) wurde auf analoge Weise ausgehend von (3) und Neu5Ac α -OCH₂(*p*-C₆H₄)-NHCOCH₂NH₂ (US Patent 5,571,836, 1996)

hergestellt.

¹H-NMR Spektrum (CD_3OD , δ , ppm): 1,968 (dd, 1H, H-3_{ax} Neu5Ac), 1,980 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 2,205 (s, 3H, NCOCH₃), 2,565 und 2,874 (t, 2x2H, J 6,8 Hz, 2 CH₂CO), 2,976 (dd, 1H, J₄ 4,5 Hz, J_{3_{ax}} 13 Hz, H-3_{eq} Neu5Ac), 3,743 (dd, 1H, J₆ 1,5 Hz, J₈ 9 Hz, H-7 Neu5Ac), 3,821 (dd, 1H, J₅ 10 Hz, H-6 Neu5Ac), 3,840 (dd, 1H, J_{9b} 12 Hz, J₈ 6 Hz, H-9a Neu5Ac), 3,924 (ddd, 1H, H-4 Neu5Ac), 3,978 (ddd, 1H, H-5 Neu5Ac), 4,047 (dd, 1H, J₈ 2 Hz, H-9b Neu5Ac), 4,083 (ddd, 1H, H-8 Neu5Ac), 4,196 (s, 2H, COCH₂NH), 4,653 und 4,973 (d, 2x1H, J 11 Hz, OCH₂Ar), 7,474 und 7,707 (d, 2x2H, J 8,3 Hz, p-C₆H₄NH), 7,561 und 8,467 (d, 2x2H, J 8,8 Hz, p-C₆H₄NO₂).

Die Verbindung Gal α 1-3Gal β -O(CH₂)₃NHCO(CH₂)₄COO(p-C₆H₄NO₂) (16) wurde auf analoge Weise ausgehend von (3) und Gal α 1-3Gal β -O(CH₂)₃NH₂ (13) hergestellt.

¹H-NMR Spektrum (D_2O , δ , ppm): 1,78 (m, 4H; CH₂CH₂), 1,89 (m, 2H, CH₂), 2,36 (t, 2H, CH₂COO), 2,77 (m, 2H, NHCOCH₂), 3,36 (m, 2H, CH₂N), 3,69 (t, 1H, J₃ 9 Hz, 2-Gal β), 3,76 (m, 1H, OCH'), 3,78 (m, 6,6'-Gal α), 3,91 (dd, 1H, J₃ 10 Hz, 2-Gal α), 4,00 (dd, 1H, 3-Gal α), 4,01 (m, 1H, OCH), 4,06 (verb. d, 1H, 4-Gal α), 4,20 (verb. d, 1H, 4-Gal β), 4,23 (verb. t, 1H, 5-Gal α), 4,48 (d, 1H, J₂ 8 Hz, 1-Gal β), 5,19 (d, 1H, J₂ 4 Hz, 1-Gal α), 8,38, 7,43 (d, 2x2H, J 9,5 Hz, Ar).

Beispiel 4.

Tetra-(N-tert.-butyloxycarbonyl-pentaglycylamidomethyl)methan

[BocGly₅-NHCH₂]₄C (21).

1mM der Verbindung (19) (siehe Tabelle 5) wurde in 4 ml CF₃COOH aufgenommen und zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit 4ml Toluol versetzt, im Vakuum eingedampft und getrocknet. Der Rückstand wurde in 5ml Wasser gelöst, mit 4 ml einer 2M HCl-Lösung versetzt und eingeengt. Das erhaltene Tetrahydrochlorid (19a) wurde im Vakuum getrocknet, in 0.5ml DMF suspendiert, mit 6 mM BocGlyGlyNOS und 0.5 ml NEt₃ versetzt und 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde im Vakuum eingeengt und das Produkt wurde mittels Säulenchromatographie gereinigt. Nach Trocknen im Vakuum wurde die Verbindung (21) als weißes Pulver in 69% Ausbeute erhalten (s.Tabelle 5).

Die Verbindungen (17)-(20), (22)-(25) wurden auf analoge Weise hergestellt (siehe Tabelle 5).

¹H-NMR-Spektren (Für die Zuordnung der ¹H-NMR-Signale wurden die Glycine innerhalb der Ketten nummeriert, diese Nummerierung beginnt jeweils am N-terminalen Ende der Ketten)

[BocGly-NHCH₂-]₄C (17). ¹H-NMR Spektrum in D₆-DMSO (δ , ppm): 1,366 (s, 9H, OCMe₃), 2,759 (verb. d, 2H; CCH₂), 3,494 (d, 2H, J_{NH} 6 Hz, CH₂^{Gly}), 7,368 (t, 1H, NH^{Gly}), 7,969 (verb. t, 1H, CCH₂NH). Massenspektrum: 783 (M+Na).

[HCl·H-Gly₂-NHCH₂-]₄C (18a). ¹H-NMR Spektrum in D₂O (δ , ppm): 2,952 (s, 2H, CCH₂), 3,966 (s, 2H, CH₂^{Gly}), 4,013 (s, 2H, CH₂^{Gly}).

[BocGly₃-NHCH₂-]₄C (19). ¹H-NMR Spektrum in D₆-DMSO (δ , ppm): 1,375 (s, 9H, OCMe₃), 2,690 (verb. d, 2H, J_{NH} 6,5 Hz, CCH₂), 3,586 (d, 2H, J_{NH} 6 Hz, CH₂^{Gly3}), 3,725 (d, 2H, J_{NH} 5,5 Hz, CH₂^{Gly1}), 3,847 (d, 2H, J_{NH} 5,5 Hz, CH₂^{Gly2}), 6,976 (t, 1H, NH^{Gly3}), 7,811 (t, 1H, NH^{Gly2}), 7,975 (t, 1H, CCH₂NH), 8,534 (t, 1H, NH^{Gly1}). Massenspektrum: 1239 (M+Na).

[BocGly₄-NHCH₂-]₄C (20). ¹H-NMR Spektrum in D₆-DMSO (δ , ppm): 1,374 (s, 9H, OCMe₃), 2,694 (verb. d, 2H, CCH₂), 3,575 (d, 2H, CH₂^{Gly4}), 3,707 (d, 2H, CH₂^{Gly1}), 3,750 (d, 2H, CH₂^{Gly3}), 3,835 (d, 2H, CH₂^{Gly2}), 6,980 (t, 1H, NH^{Gly4}), 7,827 (t, 1H, CCH₂NH), 8,048 (t, 1H, NH^{Gly3}), 8,096 (t, 1H, NH^{Gly2}), 8,590 (t, 1H, NH^{Gly1}). Massenspektrum: 1467 (M+Na).

[BocGly₅-NHCH₂-]₄C (21). ¹H-NMR Spektrum in D₆-DMSO (δ , ppm): 1,380 (s, 9H, OCMe₃), 2,688 (verb. d, 2H, CCH₂), 3,579 (d, 2H, J_{NH} 6 Hz, CH₂^{Gly5}), 3,718 (d, 2H, J_{NH} 5 Hz, CH₂^{Gly1}), 3,750 (d, 4H, J_{NH} ~5 Hz, CH₂^{Gly3,4}), 3,840 (d, 2H, J_{NH} 5,5 Hz, CH₂^{Gly2}), 6,974 (t, 1H, NH^{Gly5}), 7,770 (t, 1H, CCH₂NH), 8,006 (t, 1H, NH^{Gly4}), 8,075 und 8,102 (t, 1H, NH^{Gly2,3}), 8,550 (t, 1H, NH^{Gly1}). Massenspektrum: 1695 (M+Na), 1711(M+K).

[BocGly₇-NHCH₂-]₄C (22). ¹H-NMR Spektrum in D₆-DMSO (δ , ppm): 1,378 (s, 9H, OCMe₃), 2,688 (verb., 2H, CCH₂), 3,581 (d, 2H, CH₂^{Gly7}), 3,723 (verb. d, 2H, CH₂^{Gly1}), 3,751 (m, 8H, CH₂^{Gly3-6}), 3,840 (verb. d, 2H, CH₂^{Gly2}), 6,970 (verb. t, 1H, NH^{Gly7}), 7,814 (verb. t, 1H, CCH₂NH), 8,018 (verb. t, 1H, NH^{Gly6}), 8,081, 8,085, 8,092 und 8,118 (m, 4H, NH^{Gly2-5}), 8,545 (verb. t, 1H, NH^{Gly1}).

[HCl·H-AC-Gly₅-NHCH₂-]₄C (23a). ¹H-NMR Spektrum in D₂O (δ , ppm): 1,446 (m, 2H, CH₂), 1,689 (m, 2H, COCH₂CH₂), 1,724 (m, 2H, CH₂CH₂N), 2,398 (t, 2H, J 7,4 Hz, COCH₂), 2,967 (verb. s, CCH₂), 3,044 (t, 2H, J 7,4 Hz, CH₂N), 3,994, 4,012, 4,049 (x2) und 4,096 (s, 10H, 5 COCH₂N).

[HCl·H-AC₂-Gly₅-NHCH₂-]₄C (24a). ¹H-NMR Spektrum in D₂O (δ , ppm): 1,336 und 1,382 (m, 4H, 2 CH₂), 1,548 (m, 2H, CH₂CH₂N), 1,656 (m, 4H, 2 COCH₂CH₂), 1,712 (m, 2H, CH₂CH₂N⁺), 2,283 (t, 2H, J 7,4 Hz, COCH₂), 2,370 (t, 2H, J 7,4 Hz, COCH₂NHCOCH₂), 2,955 (verb. s, CCH₂), 3,031 (t, 2H, J 7,4 Hz, CH₂N⁺), 3,206 (t, 2H, J 6,6 Hz, CH₂N), 3,988, 4,00, 4,044 (x2) und 4,091 (s, 10H, 5 COCH₂N).

[HCl·H-AC₃-Gly₅-NHCH₂-]₄C (25a). ¹H-NMR Spektrum in D₂O (δ , ppm): 1,34-1,42 (m, 6H, 3 CH₂), 1,551

(m, 4H, 2 $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 1,653 (x2) und 1,689 (m, 6H, 3 COCH_2CH_2), 1,717 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+$), 2,270 und 2,288 (t, 4H, J 7,5 Hz, 2 COCH_2), 2,376 (t, 2H, J 7,5 Hz, $\text{COCH}_2\text{NHCOCH}_2$), 2,952 (verb. s, CCH_2), 3,033 (t, 2H, J 7,5 Hz, CH_2N^+), 3,208 (t, 4H, J 7 Hz, 2 CH_2N), 3,990, 4,004, 4,049 (x2) und 4,097 (s, 10H, 5 COCH_2N).

Tabelle 5. Herstellung tetravalenter Matrizen (17)-(25) (Beispiel 4)

Endprodukt	Ausgangsverbindung	Carboxylat	Bedingungen	DC				Isolierung der Produkte	Ausbeute %
				Boc-Diwan	Ebenol	R _f	Tetrahydronchlorid		
[BocGly-NHCH ₂] ₄ C (17)		6 mM BocGlyNOS	(1)	0.5	0	0.72	Ebenol	Das Reaktionsgemisch wurde im Vakuum eingedampft und (17) durch Kriofiltration aus ⁷ Dioxanmethanol/McOH (9/2/1) erhalten.	78
[BocGly ₂ -NHCH ₂] ₄ C (18)		6 mM BocGlyNOS	(1)	24 Stunden stehen in DMF bei Raumtemperatur	-	0.72	F	Das Produkt (18) ist sehr wund brüchig, es wurde durch Filtration isoliert und nach Abspaltung der Boc-Schutzgruppen als Tetrahydrochlorid (18a) identifiziert.	95
[BocGly ₃ -NHCH ₂] ₄ C (19)		6 mM BocGlyNOS	(17)	0.79	Azeotrop MeOH/H ₂ O 15:1:1	0.61		Das Reaktionsgemisch wurde im Vakuum eingedampft, Stärkechromatographie: Aceton/McOH/H ₂ O 30:1:1→15:1:1	77
[BocGly ₄ -NHCH ₂] ₄ C (20)			(18)	0.48	-	0.55		Das Reaktionsgemisch wurde im Vakuum eingedampft, Stärkechromatographie: Aceton/McOH/H ₂ O 30:1:1→10:1:1	63
[BocGly ₄ -NHCH ₂] ₄ C (21)			(19)	0.36	E	0.33			69
[BocGly ₄ -NHCH ₂] ₄ C (22)			(21)	-	-	0.67		Das Produkt (22) ist sehr wund brüchig, es wurde durch Filtration isoliert und nach Abspaltung der Boc-Schutzgruppen als Tetrahydrochlorid (22a) identifiziert.	93
[Boc-AC-Gly-NHCH ₂] ₄ C (23)			(21)	0.38	2N HCl	0.22		Die Produkte wurden nach Chromatographie über Sephadex LH-20, MeCN/H ₂ O 10:1; nach Abspaltung der Boc-Schutzgruppen ein Tetrahydrochlorid (23a) (23a) und (23b) identifiziert.	71
[Boc-AC ₂ Gly-NHCH ₂] ₄ C (24)			(23)	12 mM BocNH(CH ₂) ₄ - COONp	DMSO, 70°C, 72 Stunden	0.73	G	0.1	57
[Boc-AC ₃ Gly-NHCH ₂] ₄ C (25)			(24)			0.4	-		40

Beispiel 5.

Herstellung der geschützten Tetrasialoside

Herstellung von $[Ac_4(OMe)Neu5Aca-OCH_2(p-C_6H_4)NHCOCH_2NH-CO(CH_2)_4CO-(NHCH_2CO)_2NHCH_2]_4C$

$[Ac_4(OMe)Neu5Ac-Gab-Ad-Gly_5-NHCH_2]_4C$ (31).

1mM der Verbindung (21) (siehe Tabelle 6) wurde in 4 ml CF_3COOH aufgenommen und zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit 4ml Toluol versetzt, im Vakuum eingedampft und getrocknet. Der Rückstand wurde in 5ml Wasser gelöst, mit 4 ml einer 2-M HCl-Lösung versetzt und eingeengt. Das erhaltene Tetrahydrochlorid (21a) wurde im Vakuum getrocknet, in 0.5ml DMF suspendiert, mit 6 mM $Ac_4(OMe)Neu5Ac-Gab-Ad-ONp$ (8) und 0.5 ml NEt_3 versetzt und 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde im Vakuum eingeengt und das Produkt wurde mittels Säulenchromatographie gereinigt (s.Tabelle 6). Nach Trocknen im Vakuum wurde die Verbindung (21) als farbloses amorphes Produkt in 65% Ausbeute erhalten.

Die Verbindungen (26)-(30), (32)-(36) wurden auf analoge Weise hergestellt (siehe Tabelle 6).

$[Ac_4(OMe)Neu5Ac-Gab-Ad-NHCH_2]_4C$ (26). 1H -NMR Spektrum in D_6 -DMSO (δ , ppm): Matrix: 1.534 (m, 4H, 2 $COCH_2CH_2$), 2.171 (m, 4H, 2 $COCH_2CH_2$), 2.891 (verb., 2H, CCH_2), 3.867 (d, 2H, $ArNHCOCH_2$), 7.674 (verb. t, 1H, CCH_2NH), 8.107 (t, 1H, J 6 Hz, $NHCOCH_2CH_2$), 9.964 (s, 1H, $ArNH$); Neu5Aca- $OCH_2C_6H_4$ -Fragment: 1.677, 1.918, 1.975, 2.024 und 2.094 (s, 15H, 5 $COCH_3$), 1.761 (dd, 1H, J_4 12.2 Hz, H-3ax), 2.570 (dd, 1H, J_{3ax} 12.5 Hz, J_4 4.6 Hz, H-3eq), 3.697 (s, 3H, $COOCH_3$), 3.904 (ddd, 1H, J_4 10.3 Hz, H-5), 4.028 (dd, 1H, J_8 6.3 Hz, H-9b), 4.087 (dd, 1H, J_5 10.7 Hz, H-6), 4.233 (dd, 1H, J_{9b} 12.5 Hz, J_8 3 Hz, H-9a), 4.320 und 4.643 (d, 2H, J 11.8 Hz, $ArCH_2$), 4.711 (ddd, 1H, H-4), 5.192 (dd, 1H, J_8 8.4 Hz, J_6 2.4 Hz, H-7), 5.341 (ddd, 1H, H-8), 7.214 und 7.555 (d, 2H, J 8.6 Hz, Ar), 7.708 (d, 1H, J_5 9.6 Hz, NH).

$[Ac_4(OMe)Neu5Ac-Gab-Ad-Gly-NHCH_2]_4C$ (27). 1H -NMR Spektrum in D_6 -DMSO (δ , ppm): Matrix: 1.509 (m, 4H, 2 $COCH_2CH_2$), 2.147 und 2.231 (m, 4H, 2 $COCH_2CH_2$), 2.674 (verb., 2H, CCH_2), 3.647 (m, 2H, Gly), 3.859 (d, 2H, $ArNHCOCH_2$), 7.852 (verb. t, 1H, CCH_2NH), 8.100 (t, 1H, J 6 Hz, $NHCOCH_2CH_2$).

8.453 (t, 1H, J 6 Hz, NHGly), 9.962 (s, 1H, ArNH). Neu5Aca2-OCH₂C₆H₄-Fragment: 1.677, 1.918, 1.975, 2.024 und 2.094 (s, 15H, 5 COCH₃), 1.761 (dd, 1H, J₄ 12.2 Hz, H-3ax), 2.570 (dd, 1H, J_{3ax} 12.5 Hz, J₄ 4.6 Hz, H-3eq), 3.697 (s, 3H, COOCH₃), 3.904 (ddd, 1H, J₄ 10.3 Hz, H-5), 4.028 (dd, 1H, J₈ 6.3 Hz, H-9b), 4.087 (dd, 1H, J₅ 10.7 Hz, H-6), 4.233 (dd, 1H, J_{9b} 12.5 Hz, J₈ 3 Hz, H-9a), 4.320 und 4.643 (d, 2H, J 11.8 Hz, ArCH₂), 4.711 (ddd, 1H, H-4), 5.192 (dd, 1H, J₈ 8.4 Hz, J₆ 2.4 Hz, H-7), 5.341 (ddd, 1H, H-8), 7.214 und 7.555 (d, 2H, J 8.6 Hz, Ar), 7.708 (d, 1H, J₅ 9.6 Hz, NH).

[Ac₄(OMe)Neu5Ac-Gab-Ad-Gly₂-NHCH₂]₄C (28). ¹H-NMR Spektrum in D₆-DMSO (δ , ppm): Matrix: 1.495 (m, 4H, 2 COCH₂CH₂), 2.150 (m, 4H, 2 COCH₂CH₂), 2.694 (verb., 2H, CCH₂), 3.716 (d, 2H, CH₂Gly²), 3.818 (d, 2H, CH₂Gly¹), 3.865 (d, 2H, ArNHCOCH₂), 7.824 (verb. t, 1H, CCH₂NH), 7.993 (t, 1H, J 6 Hz, NHGly²), 8.096 (t, 1H, J 6 Hz, NHCOCH₂CH₂), 8.544 (t, 1H, J 6 Hz, NHGly¹), 9.975 (s, 1H, ArNH). Neu5Aca2-OCH₂C₆H₄-Fragment: 1.677, 1.918, 1.975, 2.024 und 2.094 (s, 15H, 5 COCH₃), 1.761 (dd, 1H, J₄ 12.2 Hz, H-3ax), 2.570 (dd, 1H, J_{3ax} 12.5 Hz, J₄ 4.6 Hz, H-3eq), 3.697 (s, 3H, COOCH₃), 3.904 (ddd, 1H, J₄ 10.3 Hz, H-5), 4.028 (dd, 1H, J₈ 6.3 Hz, H-9b), 4.087 (dd, 1H, J₅ 10.7 Hz, H-6), 4.233 (dd, 1H, J_{9b} 12.5 Hz, J₈ 3 Hz, H-9a), 4.320 und 4.643 (d, 2H, J 11.8 Hz, ArCH₂), 4.711 (ddd, 1H, H-4), 5.192 (dd, 1H, J₈ 8.4 Hz, J₆ 2.4 Hz, H-7), 5.341 (ddd, 1H, H-8), 7.214 und 7.555 (d, 2H, J 8.6 Hz, Ar), 7.708 (d, 1H, J₅ 9.6 Hz, NH).

[Ac₄(OMe)Neu5Ac-Gab-Ad-Gly₃-NHCH₂]₄C (29). ¹H-NMR Spektrum in D₆-DMSO (δ , ppm): Matrix: 1.498 (m, 4H, 2 COCH₂CH₂), 2.143 und 2.158 (m, 4H, 2 COCH₂CH₂), 2.693 (verb., 2H, CCH₂), 3.728 (m, 4H, 2 CH₂Gly^{2,3}), 3.841 (d, 2H, CH₂Gly¹), 3.862 (d, 2H, ArNHCOCH₂), 7.820 (verb. t, 1H, CCH₂NH), 8.049 und 8.059 (t, 2H, J 5.7 Hz, NHGly^{2,3}), 8.098 (t, 1H, J 5.8 Hz, NHCOCH₂CH₂), 8.547 (t, 1H, J 5.5 Hz, NHGly¹), 9.972 (s, 1H, ArNH). Neu5Aca2-OCH₂C₆H₄-Fragment: 1.677, 1.918, 1.975, 2.024 und 2.094 (s, 15H, 5 COCH₃), 1.761 (dd, 1H, J₄ 12.2 Hz, H-3ax), 2.570 (dd, 1H, J_{3ax} 12.5 Hz, J₄ 4.6 Hz, H-3eq), 3.697 (s, 3H, COOCH₃), 3.904 (ddd, 1H, J₄ 10.3 Hz, H-5), 4.028 (dd, 1H, J₈ 6.3 Hz, H-9b), 4.087 (dd, 1H, J₅ 10.7 Hz, H-6), 4.233 (dd, 1H, J_{9b} 12.5 Hz, J₈ 3 Hz, H-9a), 4.320 und 4.643 (d, 2H, J 11.8 Hz, ArCH₂), 4.711 (ddd, 1H, H-4), 5.192 (dd, 1H, J₈ 8.4 Hz, J₆ 2.4 Hz, H-7), 5.341 (ddd, 1H, H-8), 7.214 und 7.555 (d, 2H, J 8.6 Hz, Ar), 7.708 (d, 1H, J₅ 9.6 Hz, NH).

[Ac₄(OMe)Neu5Ac-Gab-Ad-Gly₄-NHCH₂]₄C (30). ¹H-NMR Spektrum in D₆-DMSO (δ , ppm), Matrix: 1.500 (m, 4H, 2 COCH₂CH₂), 2.151 (m, 4H, 2 COCH₂CH₂), 2.688 (verb., 2H, CCH₂), 3.720 (x2) und 3.753 (d, 6H, 3 CH₂Gly^{2,4}), 3.841 (d, 2H, CH₂Gly¹), 3.864 (d, 2H, ArNHCOCH₂), 7.818 (verb. t, 1H, CCH₂NH), 8.045 und 8.084 (x2) (t, 3H, J 6 Hz, NHGly^{2,4}), 8.102 (t, 1H, J 6 Hz, NHCOCH₂CH₂), 8.555 (t, 1H, J 5.5 Hz, NHGly¹), 9.980 (s, 1H, ArNH). Neu5Aca2-OCH₂C₆H₄-Fragment: 1.677, 1.918, 1.975, 2.024 und 2.094 (s, 15H, 5 COCH₃), 1.761 (dd, 1H, J₄ 12.2 Hz, H-3ax), 2.570 (dd, 1H, J_{3ax} 12.5 Hz, J₄ 4.6 Hz, H-3eq), 3.697 (s, 3H, COOCH₃), 3.904 (ddd, 1H, J₄ 10.3 Hz, H-5), 4.028 (dd, 1H, J₈ 6.3 Hz, H-9b), 4.087 (dd, 1H, J₅ 10.7 Hz, H-6), 4.233 (dd, 1H, J_{9b} 12.5 Hz, J₈ 3 Hz, H-9a), 4.320 und 4.643 (d, 2H, J 11.8 Hz, ArCH₂), 4.711 (ddd, 1H, H-4), 5.192 (dd, 1H, J₈ 8.4 Hz, J₆ 2.4 Hz, H-7), 5.341 (ddd, 1H, H-8), 7.214 und 7.555 (d, 2H, J 8.6 Hz, Ar), 7.708 (d, 1H, J₅ 9.6 Hz, NH).

[Ac₄(OMe)Neu5Ac-Gab-Ad-Gly₅-NHCH₂]₄C (31). ¹H-NMR Spektrum in D₆-DMSO (δ , ppm): Matrix:

1.502 (m, 4H, 2 COCH₂CH₂), 2.147 und 2.159 (m, 4H, 2 COCH₂CH₂), 2.688 (verb., 2H, CCH₂), 3.738 (x2) und 3.765 (x2) (m, 8H, 4 CH₂^{Gly2-5}), 3.857 (d, 2H, CH₂^{Gly1}), 3.877 (d, 2H, ArNHCOCH₂), 7.818 (verb. t, 1H, CCH₂NH), 8.074 (m, 5H, NHCOCH₂CH₂, NH^{Gly2-5}), 8.551 (t, 1H, J 6 Hz, NH^{Gly1}), 9.968 (s, 1H, ArNH). Neu5Aca2-OCH₂C₆H₄-Fragment 1.677, 1.918, 1.975, 2.024 und 2.094 (s, 15H, 5 COCH₃), 1.761 (dd, 1H, J₄ 12.2 Hz, H-3ax), 2.570 (dd, 1H, J_{3ax} 12.5 Hz, J₄ 4.6 Hz, H-3eq), 3.697 (s, 3H, COOCH₃), 3.904 (ddd, 1H, J₄ 10.3 Hz, H-5), 4.028 (dd, 1H, J₈ 6.3 Hz, H-9b), 4.087 (dd, 1H, J₅ 10.7 Hz, H-6), 4.233 (dd, 1H, J_{9b} 12.5 Hz, J₈ 3 Hz, H-9a), 4.320 und 4.643 (d, 2H, J 11.8 Hz, ArCH₂), 4.711 (ddd, 1H, H-4), 5.192 (dd, 1H, J₈ 8.4 Hz, J₆ 2.4 Hz, H-7), 5.341 (ddd, 1H, H-8), 7.214 und 7.555 (d, 2H, J 8.6 Hz, Ar), 7.708 (d, 1H, J₅ 9.6 Hz, NH).

[Ac₄(OMe)Neu5Ac-Gab-Ad-AC₂-Gly₅-NHCH₂]₄C (32). ¹H-NMR Spektrum in D₆-DMSO (δ , ppm), Matrix: 1.224, 1.366 und 1.469 (m, 12H, 6 CH₂), 1.502 (m, 4H, 2 COCH₂CH₂), 2.032 und 2.121 (m, 2 COCH₂), 2.147 und 2.159 (m, 4H, 2 COCH₂CH₂), 2.688 (verb., 2H, CCH₂), 3.00 (m, 4H, 2 CH₂NHCO), 3.738 (x2) und 3.765 (x2) (m, 8H, 4 CH₂^{Gly2-5}), 3.857 (d, 2H, CH₂^{Gly1}), 3.877 (d, 2H, ArNHCOCH₂), 7.679 und 7.700 (verb. t, 2H, 2 NHCO), 7.818 (verb. t, 1H, CCH₂NH), 8.074 (m, 5H, NHCOCH₂CH₂, NH^{Gly2-5}), 8.551 (t, 1H, J 6 Hz, NH^{Gly1}), 9.968 (s, 1H, ArNH). Neu5Aca2-OCH₂C₆H₄-Fragment: 1.677, 1.918, 1.975, 2.024 und 2.094 (s, 15H, 5 COCH₃), 1.761 (dd, 1H, J₄ 12.2 Hz, H-3ax), 2.570 (dd, 1H, J_{3ax} 12.5 Hz, J₄ 4.6 Hz, H-3eq), 3.697 (s, 3H, COOCH₃), 3.904 (ddd, 1H, J₄ 10.3 Hz, H-5), 4.028 (dd, 1H, J₈ 6.3 Hz, H-9b), 4.087 (dd, 1H, J₅ 10.7 Hz, H-6), 4.233 (dd, 1H, J_{9b} 12.5 Hz, J₈ 3 Hz, H-9a), 4.320 und 4.643 (d, 2H, J 11.8 Hz, ArCH₂), 4.711 (ddd, 1H, H-4), 5.192 (dd, 1H, J₈ 8.4 Hz, J₆ 2.4 Hz, H-7), 5.341 (ddd, 1H, H-8), 7.214 und 7.555 (d, 2H, J 8.6 Hz, Ar), 7.708 (d, 1H, J₅ 9.6 Hz, NH).

[Ac₄(OMe)Neu5Ac-Gab-Ad-AC₃-Gly₅-NHCH₂]₄C (33). ¹H-NMR Spektrum in D₆-DMSO (δ , ppm) ist dem Spektrum der Verbindung (32) sehr ähnlich (die Signale sind zum Teil stärker verbreitert und die Integrale der Amidocapronsäure-Gruppen sind entsprechend größer).

[Ac₄(OMe)Neu5Ac-Gab-AC-Ad-Gly₅-NHCH₂]₄C (34). ¹H-NMR Spektrum in D₆-DMSO (δ , ppm): Matrix: 1.250, 1.382, 1.465 und 1.506 (m, 10H, 5 CH₂), 2.033 und 2.140 (m, 6H, 3 COCH₂), 2.697 (verb., 2H, CCH₂), 3.009 (m~q, 2H, J 6.4 Hz, CH₂NHCO), 3.719 (x2) und 3.748 (x2) (m, 8H, 4 CH₂^{Gly2-5}), 3.843 (d, 2H, CH₂^{Gly1}), 3.862 (d, 2H, ArNHCOCH₂), 4.327 und 4.648 (d, 2H, J 11.8 Hz, ArCH₂), 7.216 und 7.555 (d, 2H, J 8 Hz, Ar), 7.698 (t, 1H, NHCO), 7.818 (verb. t, 1H, CCH₂NH), 8.039, 8.072, 8.084 (x2), 8.110 (m, 5H, NHCOCH₂CH₂, NH^{Gly2-5}), 8.547 (t, 1H, NH^{Gly1}), 9.970 (s, 1H, ArNH). Neu5Aca2-OCH₂C₆H₄-Fragment: 1.677, 1.918, 1.975, 2.024 und 2.094 (s, 15H, 5 COCH₃), 1.761 (dd, 1H, J₄ 12.2 Hz, H-3ax), 2.570 (dd, 1H, J_{3ax} 12.5 Hz, J₄ 4.6 Hz, H-3eq), 3.697 (s, 3H, COOCH₃), 3.904 (ddd, 1H, J₄ 10.3 Hz, H-5), 4.028 (dd, 1H, J₈ 6.3 Hz, H-9b), 4.087 (dd, 1H, J₅ 10.7 Hz, H-6), 4.233 (dd, 1H, J_{9b} 12.5 Hz, J₈ 3 Hz, H-9a), 4.320 und 4.643 (d, 2H, J 11.8 Hz, ArCH₂), 4.711 (ddd, 1H, H-4), 5.192 (dd, 1H, J₈ 8.4 Hz, J₆ 2.4 Hz, H-7), 5.341 (ddd, 1H, H-8), 7.214 und 7.555 (d, 2H, J 8.6 Hz, Ar), 7.708 (d, 1H, J₅ 9.6 Hz, NH).

[Ac₄(OMe)Neu5Ac-Gab-AC₂-Ad-Gly₅-NHCH₂]₄C (35). ¹H-NMR Spektrum in D₆-DMSO (δ , ppm): Matrix: 1.239, 1.375, 1.465 und 1.509 (m, CH₂), 2.026 und 2.142 (m, COCH₂), 2.711 (verb., 2H, CCH₂), 3.003 (m, 4H, 2 CH₂NHCO), 3.718 (x2) und 3.746 (x2) (m, 8H, 4 CH₂^{Gly2-5}), 3.839 (d, 2H, CH₂^{Gly1}), 3.861 (d, 2H,

ArNHCOCH_2), 4.329 und 4.649 (d, 2H, J 11.8 Hz, ArCH_2), 7.218 und 7.561 (d, 2H, J 8 Hz, Ar), 7.681 und 7.695 (m, 2H, 2 NHCO), 7.834 (verb. t, 1H, CCH_2NH), 8.077, 8.133 (x3), 8.177 (m, 5H, $\text{NHCOCH}_2\text{CH}_2$, $\text{NH}^{\text{Gly}2-5}$), 8.587 (t, 1H, NH^{Gly}), 10.01 (s, 1H, ArNH). Neu5Aca2-OCH₂C₆H₄-Fragment: 1.677, 1.918, 1.975, 2.024 und 2.094 (s, 15H, 5 COCH₃), 1.761 (dd, 1H, J_4 12.2 Hz, H-3ax), 2.570 (dd, 1H, J_{3ax} 12.5 Hz, J_4 4.6 Hz, H-3eq), 3.697 (s, 3H, COOCH₃), 3.904 (ddd, 1H, J_4 10.3 Hz, H-5), 4.028 (dd, 1H, J_8 6.3 Hz, H-9b), 4.087 (dd, 1H, J_5 10.7 Hz, H-6), 4.233 (dd, 1H, J_{9b} 12.5 Hz, J_8 3 Hz, H-9a), 4.320 und 4.643 (d, 2H, J 11.8 Hz, ArCH_2), 4.711 (ddd, 1H, H-4), 5.192 (dd, 1H, J_8 8.4 Hz, J_6 2.4 Hz, H-7), 5.341 (ddd, 1H, H-8), 7.214 und 7.555 (d, 2H, J 8.6 Hz, Ar), 7.708 (d, 1H, J_5 9.6 Hz, NH).

[Ac₄(OMe)Neu5Ac-Gab-AC₃-Ad-Gly₅-NHCH₂]₄C (36). Das ¹H-NMR Spektrum in D₆-DMSO entspricht weitestgehend dem Spektrum der Verbindung (35), die Signale sind zum Teil stärker verbreitert. Matrix (δ , ppm): 1.239, 1.375, 1.465 und 1.509 (m, CH₂), 2.026 und 2.142 (m, COCH₂), 2.629 (verb., 2H, CCH₂), 3.00 (m, 6H, 3 CH₂NHCO), 3.813 (verb., 2H, CH₂Gly^t), 3.861 (d, 2H, ArNHCOCH₂), 4.329 und 4.649 (d, 2H, J 11.8 Hz, ArCH_2), 7.218 und 7.561 (d, 2H, J 8 Hz, Ar), 7.693 (m, 3H, 3 NHCO), 7.904 (verb., 1H, CCH_2NH), 8.083 (x2), 8.158 und 8.215 (x2) (m, 5H, $\text{NHCOCH}_2\text{CH}_2$, $\text{NH}^{\text{Gly}2-5}$), 8.538 (t, 1H, NH^{Gly}). Neu5Aca2-OCH₂C₆H₄-Fragment: 1.677, 1.918, 1.975, 2.024 und 2.094 (s, 15H, 5 COCH₃), 1.761 (dd, 1H, J_4 12.2 Hz, H-3ax), 2.570 (dd, 1H, J_{3ax} 12.5 Hz, J_4 4.6 Hz, H-3eq), 3.697 (s, 3H, COOCH₃), 3.904 (ddd, 1H, J_4 10.3 Hz, H-5), 4.028 (dd, 1H, J_8 6.3 Hz, H-9b), 4.087 (dd, 1H, J_5 10.7 Hz, H-6), 4.233 (dd, 1H, J_{9b} 12.5 Hz, J_8 3 Hz, H-9a), 4.320 und 4.643 (d, 2H, J 11.8 Hz, ArCH_2), 4.711 (ddd, 1H, H-4), 5.192 (dd, 1H, J_8 8.4 Hz, J_6 2.4 Hz, H-7), 5.341 (ddd, 1H, H-8), 7.214 und 7.555 (d, 2H, J 8.6 Hz, Ar), 7.708 (d, 1H, J_5 9.6 Hz, NH).

Tabelle 6. Herstellung der geschützten Tetrasialoside (26)-(36) (Beispiel 5)

Endprodukte	Matrix	Glycosid	Bedingungen	DC		Isolierung der Produkte	Ausbeute %
				R _f	Eluent		
Methylsteriperoacat							
[Ac(OMe)Neu5Ac-Gab-Ad-NHCH ₂]C (25)	(1)		DMF/24 Stunden Rührung	0.21	C	Reaktionsgemisch wurde im Vakuum eingedampft; LC: CHCl ₃ /MeOH 10:1	57
[Ac(OMe)Neu5Ac-Gab-Ad-Gly-NHCH ₂]C (27)	(17)	6 mM	unter Raumtemperatur	0.51	E	Reaktionsgemisch wurde im Vakuum eingedampft; LC: i-PrOH/H ₂ O 2:5:1	68
[Ac(OMe)Neu5Ac-Gab-Ad-Gly ₂ NHCH ₂]C (28)	(18)			0.25	E	Reaktionsgemisch wurde im Vakuum eingedampft; LC: Aceton/MeOH/H ₂ O 20:1:1→5:1:1	63
[Ac(OMe)Neu5Ac-Gab-Ad-Gly ₃ NHCH ₂]C (29)	(19)			0.23	E	Reaktionsgemisch wurde im Vakuum eingedampft; LC: Aceton/MeOH/H ₂ O 30:1:1→10:1:1	33
[Ac(OMe)Neu5Ac-Gab-Ad-Gly ₄ NHCH ₂]C (30)	(20)			0.40	G	Reaktionsgemisch wurde im Vakuum eingedampft; LC: Aceton/MeOH/H ₂ O 15:1:1→5:1:1	68
[Ac(OMe)Neu5Ac-Gab-Ad-Gly ₅ NHCH ₂]C (31)	(21)			0.18	G	Reaktionsgemisch wurde im Vakuum eingedampft; LC: Aceton/MeOH/H ₂ O 20:1:1→5:1:1	65
[Ac(OMe)Neu5Ac-Gab-Ad-AC ₂ Gly ₅ NHCH ₂]C (32)	(24)	12 mM		0.15	G	Sephadex LH-20, MeCN/H ₂ O 1:1	60
[Ac(OMe)Neu5AC-Gab-Ad-AC ₂ Gly ₅ NHCH ₂]C (33)	(25)	(8)		0.45	H		57
[Ac(OMe)Neu5AC-Gab-Ad-AC ₂ Gly ₅ NHCH ₂]C (34)	(21)	12 mM	DMSO/70°C, 72 Stunden	0.16	G	Reaktionsgemisch wurde lyophilisiert; LC: Eluent G, dann i-PrOH/MeOH/H ₂ O 4:3:3:3	76
[Ac(OMe)Neu5AC-Gab-AC ₂ Ad-Gly ₅ NHCH ₂]C (35)	(21)	12 mM		0.11	G	Reaktionsgemisch wurde lyophilisiert; LC: Eluent G, dann H	46
[Ac(OMe)Neu5AC-Gab-AC ₂ Ad-Gly ₅ NHCH ₂]C (36)	(21)	12 mM		0.84	H		11

Beispiel 6.

Herstellung der freien Tetrasialoside

Herstellung von [Neu5Aca-OCH₂(p-C₆H₄)NHCOCH₂NH-CO(CH₂)₄CO-(NH(CH₂)₅CO)₃-(NHCH₂CO)₅-NHCH₂-]C (Ammonium Salz)

Neu5Ac-Gab-Ad-AC₃-Gly₅-NHCH₂]C (44).

Zu einer Lösung von 10 µM des geschützten Tetrasialosids (33) in 3ml absoluten MeOH wurden 80 µl 2N NaOH Lösung zugegeben, nach 3 Stunden wurden nochmals 1,5 ml Wasser und 80 µl 2N NaOH Lösung zugegeben. Das Gemisch wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, mit 80 µl AcOH versetzt und zur Trockne eingedampft. Das Produkt wurde mittels Gelchromatographie über Sephadex G-10 mit einer 0,05 M wässrigen NH₄OH-Lösung erhalten.

(siehe Tabelle 7).

Die Verbindungen (37)-(43), (45)-(47) wurden in analoger Weise erhalten (siehe Tabelle 7).

Tabelle 7 (Beispiel 6)

Tetrasialoside	Ausgangsverbindung	DC, Eluent H, R _f	Aggregat, % *	Ausbeute %
[Neu5Ac-Gab-Ad-NHCH ₂] ₄ C (37)	(26)	0,80	Keine Selbst- assoziation	76
[Neu5Ac-Gab-Ad-Gly-NHCH ₂] ₄ C (38)	(27)	0,82		81
[Neu5Ac-Gab-Ad-Gly ₂ -NHCH ₂] ₄ C (39)	(28)	0,81		91
[Neu5Ac-Gab-Ad-Gly ₃ -NHCH ₂] ₄ C (40)	(29)	0,77		90
[Neu5Ac-Gab-Ad-Gly ₄ -NHCH ₂] ₄ C (41)	(30)	0,75		83
[Neu5Ac-Gab-Ad-Gly ₅ -NHCH ₂] ₄ C (42)	(31)	0,71		83
[Neu5Ac-Gab-Ad-AC ₂ -Gly ₅ -NHCH ₂] ₄ C (43)	(32)	Monomer und Aggregat werden getrennt eluiert;	6	87
[Neu5Ac-Gab-Ad-AC ₃ -Gly ₅ -NHCH ₂] ₄ C (44)	(33)	Monomer: R _f = 0.6	54	90
[Neu5Ac-Gab-AC-Ad-Gly ₅ -NHCH ₂] ₄ C (45)	(34)	Aggregat: R _f ≈ 0	12	93
[Neu5Ac-Gab-AC ₂ -Ad-Gly ₅ -NHCH ₂] ₄ C (46)	(35)		92	86
[Neu5Ac-Gab-AC ₃ -Ad-Gly ₅ -NHCH ₂] ₄ C (47)	(36)		96	89

* Bestimmt mittels Gelpermeations-Chromatographie

[Neu5Ac-Gab-Ad-NHCH₂-]₄C (37). ¹H-NMR Spektrum in D₂O (δ , ppm): Matrix: 1,633 (m, 4H, COCH₂CH₂), 2,293 und 2,358 (m, 4H, 2 COCH₂CH₂), 2,943 (s, 2H, CCH₂), 4,003 (s, 2H, ArNHCOCH₂). 4,493 und 4,718 (d, 2H, J 11 Hz, ArCH₂), 7,388 (m, 4H, Ar). Neu5Acc-Fragment: 1,680 (dd, 1H, J₄ 12 Hz, H-3ax), 2,036 (s, 3H, NAc), 2,778 (dd, 1H, J_{3ax} 12,5 Hz, J₄ 4,6 Hz, H-3eq), 3,598 (dd, 1H, J₈ 9 Hz, H-7), 3,636 (dd, 1H, J₈ 6 Hz, H-9b), 3,695 (ddd, 1H, J₅ 9,8 Hz, H-4), 3,728 (dd, 1H, J₇ 1,5 Hz, J₅ 10,2 Hz, H-6), 3,782 (ddd, 1H, H-8), 3,822 (dd, 1H, H-5), 3,846, (dd, 1H, J_{9b} 12 Hz, J₈ 2,3 Hz, H-9a).

[Neu5Ac-Gab-Ad-Gly-NHCH₂-]₄C (38). ¹H-NMR Spektrum in D₂O (δ , ppm): Matrix: 1,622 (m, 4H, COCH₂CH₂), 2,340 und 2,382 (m, 4H, 2 COCH₂CH₂), 2,810 (s, 2H, CCH₂), 3,847 (s, 2H, CH₂^{Gly}), 4,016 (s, 2H, ArNHCOCH₂). 4,492 und 4,707 (d, 2H, J 11 Hz, ArCH₂), 7,402 (m, 4H, Ar). Neu5Acc-Fragment: 1,680 (dd, 1H, J₄ 12 Hz, H-3ax), 2,036 (s, 3H, NAc), 2,778 (dd, 1H, J_{3ax} 12,5 Hz, J₄ 4,6 Hz, H-3eq), 3,598 (dd, 1H, J₈ 9 Hz, H-7), 3,636 (dd, 1H, J₈ 6 Hz, H-9b), 3,695 (ddd, 1H, J₅ 9,8 Hz, H-4), 3,728 (dd, 1H, J₇ 1,5 Hz, J₅ 10,2 Hz, H-6), 3,782 (ddd, 1H, H-8), 3,822 (dd, 1H, H-5), 3,846, (dd, 1H, J_{9b} 12 Hz, J₈ 2,3 Hz, H-9a).

[Neu5Ac-Gab-Ad-Gly₂-NHCH₂-]₄C (39). ¹H-NMR Spektrum in D₂O (δ , ppm): Matrix: 1,626 (m, 4H, COCH₂CH₂), 2,341 (m, 4H, 2 COCH₂CH₂), 2,831 (s, 2H, CCH₂), 3,894 und 3,991 (s, 4H, 2 CH₂^{Gly1,2}), 4,022 (s, 2H, ArNHCOCH₂). 4,492 und 4,719 (d, 2H, J 11 Hz, ArCH₂), 7,402 (m, 4H, Ar). Neu5Acc-Fragment: 1,680 (dd, 1H, J₄ 12 Hz, H-3ax), 2,036 (s, 3H, NAc), 2,778 (dd, 1H, J_{3ax} 12,5 Hz, J₄ 4,6 Hz, H-3eq), 3,598 (dd, 1H, J₈ 9 Hz, H-7), 3,636 (dd, 1H, J₈ 6 Hz, H-9b), 3,695 (ddd, 1H, J₅ 9,8 Hz, H-4), 3,728 (dd, 1H, J₇ 1,5 Hz, J₅ 10,2 Hz, H-6), 3,782 (ddd, 1H, H-8), 3,822 (dd, 1H, H-5), 3,846, (dd, 1H, J_{9b} 12 Hz, J₈ 2,3 Hz, H-9a).

[Neu5Ac-Gab-Ad-Gly₃-NHCH₂-]₄C (40). ¹H-NMR Spektrum in D₂O (δ , ppm): Matrix: 1,631 (m, 4H, COCH₂CH₂), 2,344 (m, 4H; 2 COCH₂CH₂), 2,857 (s, 2H, CCH₂), 3,912, 3,931 und 4,024 (s, 6H, 3 CH₂^{Gly1-3}), 4,029 (s, 2H, ArNHCOCH₂). 4,500 und 4,725 (d, 2H, J 11 Hz, ArCH₂), 7,408 (m, 4H, Ar). Neu5Acc-Fragment: 1,680 (dd, 1H, J₄ 12 Hz, H-3ax), 2,036 (s, 3H, NAc), 2,778 (dd, 1H, J_{3ax} 12,5 Hz, J₄ 4,6 Hz, H-3eq), 3,598 (dd, 1H, J₈ 9 Hz, H-7), 3,636 (dd, 1H, J₈ 6 Hz, H-9b), 3,695 (ddd, 1H, J₅ 9,8 Hz, H-4), 3,728 (dd, 1H, J₇ 1,5 Hz, J₅ 10,2 Hz, H-6), 3,782 (ddd, 1H, H-8), 3,822 (dd, 1H, H-5), 3,846, (dd, 1H, J_{9b} 12 Hz, J₈ 2,3 Hz, H-9a).

[Neu5Ac-Gab-Ad-Gly₄-NHCH₂-]₄C (41). ¹H-NMR Spektrum in D₂O (δ , ppm): Matrix: 1,636 (m, 4H, COCH₂CH₂), 2,350 (m, 4H, 2 COCH₂CH₂), 2,864 (s, 2H, CCH₂), 3,912, 3,934, 3,968 und 4,025 (s, 8H, 4 CH₂^{Gly1-4}), 4,032 (s, 2H, ArNHCOCH₂). 4,497 und 4,725 (d, 2H, J 11 Hz, ArCH₂), 7,408 (m, 4H, Ar). Neu5Acc-Fragment: 1,680 (dd, 1H, J₄ 12 Hz, H-3ax), 2,036 (s, 3H, NAc), 2,778 (dd, 1H, J_{3ax} 12,5 Hz, J₄ 4,6 Hz, H-3eq), 3,598 (dd, 1H, J₈ 9 Hz, H-7), 3,636 (dd, 1H, J₈ 6 Hz, H-9b), 3,695 (ddd, 1H, J₅ 9,8 Hz, H-4), 3,728 (dd, 1H, J₇ 1,5 Hz, J₅ 10,2 Hz, H-6), 3,782 (ddd, 1H, H-8), 3,822 (dd, 1H, H-5), 3,846, (dd, 1H, J_{9b} 12 Hz, J₈ 2,3 Hz, H-9a).

[Neu5Ac-Gab-Ad-Gly₅-NHCH₂-]₄C (42). ¹H-NMR Spektrum in D₂O (δ , ppm): Matrix: 1,638 (m, 4H, COCH₂CH₂), 2,355 (m, 4H, 2 COCH₂CH₂), 2,878 (s, 2H, CCH₂), 3,921; 3,933, 3,974 (x2) und 4,032 (s, 10H, 5 CH₂^{Gly1-5}), 4,036 (s, 2H, ArNHCOCH₂). 4,502 und 4,724 (d, 2H, J 11 Hz, ArCH₂), 7,410 (m, 4H,

Ar). Neu5Ac α -Fragment : 1,680 (dd, 1H, J₄ 12 Hz, H-3ax), 2,036 (s, 3H, NAc), 2,778 (dd, 1H, J_{3ax} 12,5 Hz, J₄ 4,6 Hz, H-3eq), 3,598 (dd, 1H, J₈ 9 Hz, H-7), 3,636 (dd, 1H, J₈ 6 Hz, H-9b), 3,695 (ddd, 1H, J₅ 9,8 Hz, H-4), 3,728 (dd, 1H, J₇ 1,5 Hz, J₅ 10,2 Hz, H-6), 3,782 (ddd, 1H, H-8), 3,822 (dd, 1H, H-5), 3,846, (dd, 1H, J_{9b} 12 Hz, J₈ 2,3 Hz, H-9a).

[Neu5Ac-Gab-Ad-AC₂-Gly₅-NHCH₂]₄C (43). ¹H-NMR Spektrum in D₂O (δ , ppm): Matrix: 1,286, 1,476 und 1,567 (m, 12H, 6 CH₂), 1,623 (m, 4H, COCH₂CH₂CH₂CO), 2,179 (t, 2H, J 7,4 Hz, CH₂CO), 2,245 und 2,367 (m, 4H, COCH₂CH₂CH₂CH₂CO), 2,299 (t, 2H, J 7,4 Hz, CH₂CO), 2,882 (s, 2H, CCH₂), 3,133 (m, 4H, 2 CH₂N), 3,928, 3,940, 3,987 (x2) und 4,043 (x2) (s, 12H, 6 COCH₂N), 4,502 und 4,730 (d, 2H, J 11 Hz, ArCH₂), 7,418 (m, 4H, Ar). Neu5Ac α -Fragment : 1,680 (dd, 1H, J₄ 12 Hz, H-3ax), 2,036 (s, 3H, NAc), 2,778 (dd, 1H, J_{3ax} 12,5 Hz, J₄ 4,6 Hz, H-3eq), 3,598 (dd, 1H, J₈ 9 Hz, H-7), 3,636 (dd, 1H, J₈ 6 Hz, H-9b), 3,695 (ddd, 1H, J₅ 9,8 Hz, H-4), 3,728 (dd, 1H, J₇ 1,5 Hz, J₅ 10,2 Hz, H-6), 3,782 (ddd, 1H, H-8), 3,822 (dd, 1H, H-5), 3,846, (dd, 1H, J_{9b} 12 Hz, J₈ 2,3 Hz, H-9a).

Aggregat [Neu5Ac-Gab-Ad-AC₃-Gly₅-NHCH₂]₄C (44). ¹H-NMR Spektrum in D₂O ist dem Spektrum der Verbindung (43) sehr ähnlich,

Matrix (δ , ppm): 1,283, 1,476, 1,570 (m, 18H, 9 CH₂), 2,178 und 2,189 (t, 2x2H, J 7,4 Hz, 2 CH₂CO), 2,301 (t, 2H, J 7,4 Hz, CH₂CO), 3,135 (m, 6H, 3 CH₂N), 3,928, 3,940, 3,987 (x2) und 4,043 (x2) (s, 12H, 6 COCH₂N), 4,502 und 4,730 (d, 2H, J 11 Hz, ArCH₂), 7,418 (m, 4H, Ar).

Neu5Ac α -Fragment : 1,680 (dd, 1H, J₄ 12 Hz, H-3ax), 2,036 (s, 3H, NAc), 2,778 (dd, 1H, J_{3ax} 12,5 Hz, J₄ 4,6 Hz, H-3eq), 3,598 (dd, 1H, J₈ 9 Hz, H-7), 3,636 (dd, 1H, J₈ 6 Hz, H-9b), 3,695 (ddd, 1H, J₅ 9,8 Hz, H-4), 3,728 (dd, 1H, J₇ 1,5 Hz, J₅ 10,2 Hz, H-6), 3,782 (ddd, 1H, H-8), 3,822 (dd, 1H, H-5), 3,846, (dd, 1H, J_{9b} 12 Hz, J₈ 2,3 Hz, H-9a).

[Neu5Ac-Gab-AC-Ad-Gly₅-NHCH₂]₄C (45). ¹H-NMR Spektrum in D₂O (δ , ppm): Matrix: 1,334 (m, 2H, CH₂), 1,504 (m, 2H, CH₂CH₂NH), 1,569 (m, 4H, COCH₂CH₂CH₂CO), 1,625 (m, 2H, CH₂CH₂CO), 2,207 und 2,313 (m, 4H, COCH₂CH₂CH₂CH₂CO), 2,344 (t, 2H, J 7 Hz, CH₂CO), 2,885 (s, 2H, CCH₂), 3,156 (t, 2H, J 7,4 Hz, CH₂N), 3,928, 3,942, 3,979, 3,984, 4,037 und 4,042 (s, 12H, 6 COCH₂N), 4,506 und 4,729 (d, 2H, J 11 Hz, ArCH₂), 7,420 (m, 4H, Ar). Neu5Ac α -Fragment : 1,680 (dd, 1H, J₄ 12 Hz, H-3ax), 2,036 (s, 3H, NAc), 2,778 (dd, 1H, J_{3ax} 12,5 Hz, J₄ 4,6 Hz, H-3eq), 3,598 (dd, 1H, J₈ 9 Hz, H-7), 3,636 (dd, 1H, J₈ 6 Hz, H-9b), 3,695 (ddd, 1H, J₅ 9,8 Hz, H-4), 3,728 (dd, 1H, J₇ 1,5 Hz, J₅ 10,2 Hz, H-6), 3,782 (ddd, 1H, H-8), 3,822 (dd, 1H, H-5), 3,846, (dd, 1H, J_{9b} 12 Hz, J₈ 2,3 Hz, H-9a).

Aggregat [Neu5Ac-Gab-AC₂-Ad-Gly₅-NHCH₂]₄C (46). ¹H-NMR Spektrum in D₂O (δ , ppm): Matrix: 1,268, 1,504 und 1,630 (m, 12H, 6 CH₂), 1,572 (m, 4H, COCH₂CH₂CH₂CH₂CO), 2,185 (t, 2H, J 7 Hz, CH₂CO), 2,212 und 2,315 (m, 4H, COCH₂CH₂CH₂CH₂CO), 2,349 (t, 2H, J 7,4 Hz, CH₂CO), 2,898 (s, 2H, CCH₂), 3,130 und 3,158 (t, 2x2H, J 7,4 Hz, 2 CH₂N), 3,934, 3,945, 3,987 (x2), 4,039 und 4,045 (s, 12H, 6 COCH₂N), 4,509 und 4,725 (d, 2H, J 11 Hz, ArCH₂), 7,422 (m, 4H, Ar). Neu5Ac α -Fragment : 1,680 (dd, 1H, J₄ 12 Hz, H-3ax), 2,036 (s, 3H, NAc), 2,778 (dd, 1H, J_{3ax} 12,5 Hz, J₄ 4,6 Hz, H-3eq), 3,598 (dd, 1H, J₈ 9 Hz, H-7), 3,636 (dd, 1H, J₈ 6 Hz, H-9b), 3,695 (ddd, 1H, J₅ 9,8 Hz, H-4), 3,728 (dd, 1H, J₇ 1,5 Hz, J₅ 10,2 Hz, H-6), 3,782 (ddd, 1H, H-8), 3,822 (dd, 1H, H-5), 3,846, (dd, 1H, J_{9b} 12 Hz, J₈ 2,3 Hz, H-9a).

Aggregat $\{[\text{Neu5Ac-Gab-AC}_3\text{-Ad-Gly}_6\text{-NHCH}_2]_4\text{C}\}$ (47). Das $^1\text{H-NMR}$ Spektrum in D_2O ist dem Spektrum der Verbindung (46) sehr ähnlich, die Signale sind zum Teil stärker verbreitert.

Matrix (δ , ppm): 1,276, 1,461 und 1,630 (m, 18H, 9 CH_2), 2,186 (t, 2x2H, J 7 Hz, 2 CH_2CO), 2,349 (t, 2H, J 7,4 Hz, CH_2CO), 3,132 (m, 6H, 3 CH_2N), 3,934, 3,945, 3,987 (x2), 4,039 und 4,045 (s, 12H, 6 COCH_2N), 4,509 und 4,725 (d, 2H, J 11 Hz, ArCH_2), 7,422 (m, 4H, Ar).

Neu5A α -Fragment: 1,680 (dd, 1H, J_4 12 Hz, H-3ax), 2,036 (s, 3H, NAc), 2,778 (dd, 1H, J_{3ax} 12,5 Hz, J_4 4,6 Hz, H-3eq), 3,598 (dd, 1H, J_8 9 Hz, H-7), 3,636 (dd, 1H, J_8 6 Hz, H-9b), 3,695 (ddd, 1H, J_5 9,8 Hz, H-4), 3,728 (dd, 1H, J , 1,5 Hz, J_5 10,2 Hz, H-6), 3,782 (ddd, 1H, H-8), 3,822 (dd, 1H, H-5), 3,846, (dd, 1H, J_{bb} 12 Hz, J_8 2,3 Hz, H-9a).

Beispiel 7.

Herstellung des Aggregats $\{[\text{Neu5Acc-OCH}_2(p\text{-C}_6\text{H}_4)\text{NHCOCH}_2\text{NH-CO(CH}_2)_4\text{CO-(NHCH}_2\text{CO)}_7\text{-NHCH}_2\text{I}_4\text{Cl}\}_x$ (Ammonium-Salz)

$\{[\text{Neu5Ac-Gab-Ad-Gly}_7\text{-NHCH}_2]_4\text{C}\}_x$ (48).

6,1 mg, (3,25 μM) des Tetrahydrochlorids (22a), hergestellt wie im Beispiel 4 beschrieben, wurden in 0,5 ml Wasser mit 18,8 mg (26 μM) der lyophilisierten Verbindung (15) versetzt. Der pH des Reaktionsgemisches wurde mit 1M NaHCO_3 - Lösung auf pH=8 gestellt. Die Reaktionslösung wurde 3 Tage bei Raumtemperatur gerührt; wobei der pH durch Zugabe von 1M NaHCO_3 - Lösung auf pH=8 gehalten wurde. Das Reaktionsgemisch wurde über eine Sephadex LH-20 Säule mit einer 0,05 M wässrigen NH_4OH -Lösung getrennt. Nach Einengen und Trocknen im Vakuum wurden 9,6mg des Produkts (48) erhalten, entsprechend einer Ausbeute von 71%.

$^1\text{H-NMR}$ Spektrum (D_2O , δ , ppm): Matrix: 1,638 (m, 4H, COCH_2CH_2), 2,358 (m, 4H, 2 COCH_2CH_2), 2,878 (s, 2H, CCH_2), 3,918, 3,938, 3,978 (x4) und 4,034 (s, 14H, 7 $\text{CH}_2^{6\text{H}-7}$), 4,037 (s, 2H, ArNHCOCH_2), 4,498 und 4,718 (d, 2H, J 11 Hz, ArCH_2), 7,408 (m, 4H, Ar). Neu5A α -Fragment: 1,680 (dd, 1H, J_4 12 Hz, H-3ax), 2,036 (s, 3H, NAc), 2,778 (dd, 1H, J_{3ax} 12,5 Hz, J_4 4,6 Hz, H-3eq), 3,598 (dd, 1H, J_8 9 Hz, H-7), 3,636 (dd, 1H, J_8 6 Hz, H-9b), 3,695 (ddd, 1H, J_5 9,8 Hz, H-4), 3,728 (dd, 1H, J , 1,5 Hz, J_5 10,2 Hz, H-6), 3,782 (ddd, 1H, H-8), 3,822 (dd, 1H, H-5), 3,846, (dd, 1H, J_{bb} 12 Hz, J_8 2,3 Hz, H-9a).

Beispiel 8.

Herstellung von Aggregaten

Herstellung von $\text{Gal}\alpha 1\text{-}3\text{Gal}\beta 1\text{-O(CH}_2)_3\text{NH-CO(CH}_2)_4\text{CO-(NH(CH}_2)_5\text{CO)}_3\text{-}$
 $(\text{NHCH}_2\text{CO})_5\text{-NHCH}_2\text{-I}_4\text{C}$

$\{[\text{B}_{\text{di}}\text{-Ap-Ad-AC}_3\text{-Gly}_5\text{-NHCH}_2\text{-}]_4\text{C}\}_x$ (49).

Zu einer Suspension von 5,6mg (2 μ M) des Tetrahydrochlorids (25a), hergestellt wie im Beispiel 4 beschrieben, in 0,5ml DMSO wurden 15,6mg (16) und 5 μ l Et₃N zugegeben. Die Reaktionslösung wurde 3 Tage bei 40°C gerührt. Nach Zugabe von 0,2ml konz. NH₄OH-Lösung wurde das Reaktionsgemisch 30 Minuten gerührt und über eine Sephadex LH-20 Säule mit MeCN/H₂O 1:1 getrennt. Nach Einengen und Trocknen im Vakuum wurden 6,4mg des Produkts (49) erhalten, entsprechend einer Ausbeute von 69%.

¹H-NMR Spektrum (D₂O/CD₃OD 2:1, δ , ppm): 1,374, 1,562 und 1,645 (m, CH₂), 1,883 (m, 2H, OCH₂CH₂CH₂N), 2,265 (t, 4H, J 7,5 Hz, 2 CH₂CO), 2,292 (m, 4H, 2 CH₂CO), 2,377 (t, 2H, J 7,5 Hz, CH₂CO), 2,955 (verb. s, CCH₂), 3,213 (t, 6H, 3 CH₂N), 3,348 (m, 2H, OCH₂CH₂CH₂N), 3,697 (dd, 1H, H-2 Gal β), 3,756 (m, OCH₂CH₂CH₂N), 3,910 (dd, 1H, J₃ 10 Hz, H-2 Gal α), 4,00, 4,046 und 4,097 (s, 10H, 5 COCH₂N), 4,205 (d, 1H, J₃ 3 Hz, H-4 Gal β), 4,255 (m, 1H, H-5 Gal α), 4,462 (d, 1H, J₂ 8 Hz, H-1 Gal β), 5,184 (d, 1H, J₂ 4 Hz, H-1 Gal α).

Herstellung von $\text{fNeu5Aca2-3Gal}\beta 1\text{-4Glc}\beta 1\text{-NHCOCH}_2\text{NH-CO(CH}_2)_4\text{CO-(NHCH}_2\text{CO)}_5\text{-}$
 $\text{NHCH}_2\text{-I}_4\text{C}$

$\{[3^{\text{T}}\text{SL-NHCOCH}_2\text{NH-Ad-Gly}_5\text{-NHCH}_2\text{-}]_4\text{C}\}_x$ (50)

wurde ausgehend von (21a) und (14) analog zur Verbindung (49) hergestellt.

DC: R_f 0.52 (Methanol/Acetonitril/Wasser 6:6:3). Ausbeute 65%.

¹H-NMR Spektrum (D₂O, δ , ppm): 1,622 (m, 4H, CH₂CH₂CH₂CO), 1,797 (dd, 1H, J₄ 12 Hz, H-3_{ax} Neu5Ac), 2,017 (s, 3H, COCH₃), 2,342 (m, 4H, 2 CH₂CO), 2,744 (dd, 1H, J_{3ax} 12,5 Hz, J₄ 4,6 Hz, H-3_{eq} Neu5Ac), 2,895 (verb. s, CCH₂), 3,452 (dd, 1H, H-2 Glc β), 3,568 (dd, 1H, J₃ 10 Hz, H-2 Gal β), 3,954, 3,992 und 4,041 (s, 12H, 6 COCH₂N), 4,105 (dd, 1H, J₂ 10 Hz, J₄ 3 Hz, H-3 Gal β), 4,523 (d, 1H, J₂ 8 Hz, H-1 Gal β), 5,005 (d, 1H, J₂ 9 Hz, H-1 Glc β).

Herstellung von $\text{fNeu5Ac}\alpha\text{2-3Gal}\beta\text{1-4Glc}\beta\text{1-NHCOCH}_2\text{NH-CO(CH}_2)_4\text{CO-(NHCH}_2\text{CO)}_x\text{NHCH}_2\text{-I}_4\text{C}$

$\{[3^{\text{`}}\text{SL-NHCOCH}_2\text{NH-Ad-Gly}_7\text{-NHCH}_2\text{-}]_4\text{C}\}_x$ (51)

wurde ausgehend von (22a) und (14) analog zur Verbindung (48) hergestellt. Ausbeute 78%.

¹H-NMR Spektrum (D_2O , δ , ppm): 1,622 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 1,797 (dd, 1H, J_4 12 Hz, H- 3_{ax} Neu5Ac), 2,017 (s, 3H, COCH_3), 2,342 (m, 4H, 2 CH_2CO), 2,744 (dd, 1H, $J_{3\text{ax}}$ 12.5 Hz, J_4 4.6 Hz, H- 3_{eq} Neu5Ac), 2,895 (verb. s, CCH_2), 3,452 (dd, 1H, H-2 Glc β), 3,568 (dd, 1H, J_3 10 Hz, H-2 Gal β), 3,954, 3,992 und 4,041 (s, 16H, 8 COCH_2N), 4,105 (dd, 1H, J_2 10 Hz, J_4 3 Hz, H-3 Gal β), 4,523 (d, 1H, J_2 8 Hz, H-1 Gal β), 5,005 (d, 1H, J_2 9 Hz, H-1 Glc β).

Beispiel 9

Induktion der Selbstassoziation von $[\text{HCl-H-Gly}_7\text{-NHCH}_2\text{-}]_4\text{C}$ (22a).

Die Untersuchung der Lichtstreuung einer 50 mM Lösung der Verbindung (22a) in Wasser wurde mit einem Spectra-Physics 164 Argon Laser (Plasma Linien $\lambda=528.7$ and 611.5 nm) durchgeführt, die Streuung wurde in einem Winkel von 90° zum eintretenden Lichtstrahl gemessen. Die hierbei bestimmte Teilchengröße betrug <2.5 nm. Zu dieser Lösung wurden 50 μl einer 0.8 M NaHCO_3 -Lösung zugegeben. Die Lichtstreuung wurde, wie oben beschrieben, vermessen, die hierbei bestimmte durchschnittliche Teilchengröße betrug 200–400 nm.

Zu dieser Lösung wurden 50 μl einer 0.8 M HCl zugegeben, und die Probe mittels Lichtstreuung, wie oben beschrieben, untersucht. Die hierbei bestimmte Teilchengröße betrug < 2.5 nm.

Beispiel 10

Inhibition der viralen Zell-Adhäsion von Influenza-Viren

Die spezifischen Bindungskonstanten der Inhibitor-Virus-Komplexe wurden mittels eines Fetuin-Binding-Assay, wie in der Literatur beschrieben, bestimmt (US Patent

5,571,836, 1996; PCT WO 98/14215).

Tabelle 8, Beispiel 10

Influenza virus A/NIB/44/90M H3N2

Inhibitor	Verbindung Nr.	K _d , μM
Neu5Acc-OBu		100
[Neu5Ac-Gab-Ad-Gly _n -NHCH ₂ -] ₄ C (n=0-5)	(38) - (42)	~50
[Neu5Ac-Gab-Ad-Gly ₇ -NHCH ₂ -] ₄ C	(48)	0.1
[Neu5Ac-Ap-Ad-Gly _n -NHCH ₂ -] ₄ C (n=0-3)		200
[Neu5Ac-Gab-AC-Ad-Gly ₅ -NHCH ₂ -] ₄ C	(45)	7
[Neu5Ac-Gab-AC ₂ -Ad-Gly ₅ -NHCH ₂ -] ₄ C	(46)	0.3
[Neu5Ac-Gab-AC ₃ -Ad-Gly ₅ -NHCH ₂ -] ₄ C	(47)	0.1
[Neu5Ac-Gab-Ad-AC ₂ -Gly ₅ -NHCH ₂ -] ₄ C	(43)	0.1
[Neu5Ac-Gab-Ad-AC ₃ -Gly ₅ -NHCH ₂ -] ₄ C	(44)	0.04

Influenza virus A/Duck/Alberta/60/67 H12N5		
3' SL		20
[3' SL-NHCOCH ₂ NH-Ad-Gly ₅ -NHCH ₂ -] ₄ C	(50)	1
[3' SL-NHCOCH ₂ NH-Ad-Gly ₇ -NHCH ₂ -] ₄ C	(51)	0.1

Beispiel 11

Inhibition der Complement-abhängigen Zytotoxizität von menschlichen Blutseren gegenüber PK 15 Zellen durch das Aggregat {[B_d-Ap-Ad-AC₃-Gly₅-NHCH₂-]₄C}_x (49)

Verdünnungsreihen des B-Disaccharides Galα1-3Gal und des Aggregats {[B_d-Ap-Ad-AC₃-Gly₅-NHCH₂-]₄C}_x (49) mit menschlichem Blutserum wurden über Nacht bei 4°C inkubiert, und die Inhibition der Zytotoxizität wurde, wie in der Literatur beschrieben, nachgewiesen (R.Rieben, E.von Allmen, E.Y.Korchagina, U.E.Nydegger, F.A.Neethling, M.Kujundzic, E.Koren, N.V.Bovin, D.K.C.Cooper, *Xenotransplantation*, 2, 98, 1995). Nach Zugabe der Complement-Bestandteile in Form von 10% Kaninchen-Serum (Sigma) wurden die Proben 10 Minuten lang mit auf Terasaki-Platten gezogenen PK15-Zellen inkubiert. Anschliessend wurden die Zellen gewaschen und mit einem Zytotoxizitätskit ("live/dead" viability/cytotoxicity kit, Molecular Probes, Eugene, OR, USA) angefärbt. Durch Messung der Fluoreszenz-Intensitäten wurden die lebend/tod-Anteile bestimmt. Die Inhibition der Zytotoxizität wurde im Vergleich zu einer Serum-Probe, der keine Inhibitoren zugesetzt waren,

berechnet. Bei folgenden Konzentrationen (berechnet als molare Konzentration der B-Disaccharid-Einheiten) wurde eine Inhibition der Zytotoxizität um 50% erreicht:

Gal α 1-3Gal (B-Disaccharide) 200 μ M

{[B_{d1}-Ap-Ad-AC₃-Gly₅-NHCH₂-]₄C} Aggregat (49) 0.5 μ M

Beispiel 12

Die divalenten Matrizen der Formel [HCl-H-Gly_n-NHCH₂CH₂-]₂ ($n = 2, 4$) wurden ausgehend von 1,4-Diaminobutan analog der Synthese in Beispiel 4 hergestellt.

Herstellung von *Bis - 1,4-(hexaglycylamido)-butan* [HCl-H-Gly₆-NHCH₂CH₂-]₂ (52).

Zu einer Lösung von 30 mg der Verbindung [HCl-H-Gly₄-NHCH₂CH₂-]₂ (48.6 μ M) in 0.5 ml DMSO wurden 48 mg BocGlyGlyNOS (146 μ M) und 0.1 ml Et₃N zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, wobei sich ein Niederschlag bildete. Nach Zugabe von 1 ml Wasser wurde der Niederschlag durch Zentrifugation abgetrennt, dreimal in jeweils 1ml MeOH suspendiert und nochmals abzentrifugiert. Nach Trocknen im Vakuum wurde der Rückstand mit 0.5 ml Trifluoressigsäure versetzt. Nach zwei Stunden wurden zweimal jeweils 3 ml Toluol zugegeben und die Lösung eingeeignet. Der Rückstand wurde in Wasser gelöst und nach Zugabe von 0.1 ml einer 2 M HCl-Lösung bis zur Trockne eingedampft. Das Produkt wurde mittels Gelchromatographie über eine Sephadex LH-20 Säule (1x30 cm) mit einer 50%igen wässrigen Acetonitril-Lösung erhalten. Nach Gefriertrocknung der Produktfraktion erhielt man 26 mg (63%) der Verbindung (52).

¹H-NMR Spektrum in D₂O (δ , ppm): 1,455 (m, 4H, CH₂CH₂CH₂CH₂), 3,172 (m, 4H, 2CH₂N), 3,856, 3,872, 3,947, 3,960, 3,975 und 4,028 (s, 2H, COCH₂N).

Das Aggregat $\{[Neu5Ac\alpha-OCH_2(p-C_6H_4)NHCOCH_2NH-CO(CH_2)_2CO-(NHCH_2CO)_x-$
 $NHCH_2CH_2]\}_x$ (Ammonium-Salz) $\{[Neu5Ac-Gab-Ad-Gly_6-NHCH_2CH_2]\}_x$ (53)

wurde analog der Verbindung (48) in Beispiel 7 hergestellt.

Ausbeute 72%.

¹H-NMR Spektrum in D₂O (δ , ppm): Matrix: 1,470 (m, 4H, CH₂CH₂CH₂CH₂), 1,649 (m, 4H, COCH₂CH₂), 2,363 (m, 4H, 2COCH₂CH₂), 3,181 (m, 4H, 2CH₂N), 3,869, 3,941, 3,962, 3,977 (x3) und 4,045 (s, 2H, COCH₂N), 4,505 und 4,727 (d, 2H, J 11 Hz, ArCH₂), 7,415 (m, 4H, Ar). Neu5Ac α -Fragment: 1,680 (dd, 1H, J₄ 12 Hz, H-3ax), 2,036 (s, 3H, NAc), 2,778 (dd, 1H, J_{3ax} 12,5 Hz, J₄ 4,6 Hz, H-3eq), 3,598 (dd, 1H, J₈ 9 Hz, H-7), 3,636 (dd, 1H, J₈ 6 Hz, H-9b), 3,695 (ddd, 1H, J₅ 9,8 Hz, H-4), 3,728 (dd, 1H, J₇ 1,5 Hz, J₅ 10,2 Hz, H-6), 3,782 (ddd, 1H, H-8), 3,822 (dd, 1H, H-5), 3,846, (dd, 1H, J_{9b} 12 Hz, J₈ 2,3 Hz; H-9a).

Beispiel 13

Herstellung von NeuAc α 2-6Gal β 1-4GlcNAc β -O(CH₂)₃NH-CO(CH₂)₄COO(p-C₆H₄NO₂)
6'SLN-Ap-Ad-ONp (52).

Zu einer Lösung von 28 mg (38 μ mol) der Verbindung 6'SLN-O(CH₂)₃NH₂ in 400 μ L DMSO wurde eine Lösung von 65 mg (195 μ mol) Di-(4-Nitrophenyl)-adipat (3) in 300 μ L DMF zugegeben. Das Gemisch wurde 16 Stunden bei 20°C gerührt. Nach Zugabe von 5ml H₂O und 0,1 ml AcOH wurde der Überschuss (3) abfiltriert. Das Filtrat wurde auf ein geringes Volumen von ca. 1ml eingeeengt und mittels Gelpermeations-Chromatographie über Sephadex LH-20 aufgetrennt (MeCN /H₂O/AcOH 1:1:0,005). Ausbeute (52) - 71%. DC: R_f 0,46 (i-PrOH /Aceton /H₂O 4:3:2).

¹H-NMR Spektrum (D₂O, δ , ppm): 1,641 (m, 6H, 2 COCH₂CH₂ und OCH₂CH₂), 1,674 (dd, 1H, H-3-ax Neu5Ac), 1,930 und 1,958 (s, 2x3H, 2 COCH₃, Neu5Ac und GlcNAc), 2,218 (t, 2H, NCOCH₂), 2,559 (dd, 1H, J_{3ax}, 13Hz, J₄ 4,7 Hz, H-3eq Neu5Ac), 2,646 (m, 2H, CH₂COOAr), 3,090 und 3,190 (m, 2x1H, NCH₂), 3,42-3,94 (21H; Überlagerung der Kohlenhydrat-Signale und OCH₂), 4,328 (d, 1H, J₂ 8 Hz, H-1 Gal), 4,419 (d, 1H, J₂ 8 Hz, H-1 GlcNAc), 7,291 und 8,256 (d, 2x2H, J 8,3 Hz, Ar).

Herstellung von [6'SLN-Ap-Ad-Gly₇-NHCH₂]₄C (53)

Zu einer Lösung von 5 mg (2,7 μ mol) des Tetrahydrochlorids [HCL Gly₇-NHCH₂]₄C (22a) in 500 μ L H₂O wurden 15 mg (16,2 μ mol) der Verbindung NeuAc α 2-6Gal β 1-4GlcNAc β -O(CH₂)₃NH-CO(CH₂)₄COO(p-C₆H₄NO₂) (52) zugegeben.

Der pH-Wert der erhaltenen Lösung wurde durch tropfenweise Zugabe von 1M NaHCO₃-Lösung auf pH-8 eingestellt. Das Reaktionsgemisch wurde 3 Tage bei Raumtemperatur gerührt und mittels Gelpermeations-Chromatographie (G10, 0,05 M NH₃) aufgetrennt.

Ausbeute (53) 34%, DC: R_f~0 (i-PrOH /Aceton/H₂O 4:3:2).

¹H-NMR Spektrum (D₂O, δ , ppm): Matrix: 1,628 (m, 4H, COCH₂CH₂), 1,789 (m, 2H, OCH₂CH₂), 2,275 und 2,373 (m, 2x2H, 2 COCH₂CH₂), 2,935 (s, 2H, CCH₂), 3,197 und 3,279 (m, 2x1H, NCH₂), 3,971, 3,990, 4,026 (x3) und 4,077 (x2) (s, 14H, 7 CH₂^{Gly1-7}).

Kohlenhydrat-Signale: 1,730 (dd, 1H, H-3ax Neu5Ac), 2,049 und 2,078 (s, 2x3H, 2 COCH₃, Neu5Ac und GlcNAc), 2,693 (dd, 1H, J_{3ax} 12,4 Hz, J₄ 4,6 Hz, H-3eq Neu5Ac), 3,54-3,96 (21 H, Überlagerung der Kohlenhydrat-Signale und OCH₂), 4,468 (d, 1H, J₂ 8Hz, H-1 Gal), 4,562 (d, 1H, J₂ 8 Hz, H-1 GlcNAc).

Die Verbindung [6'SLN-Ap-Ad-AC₂-Gly₅-NHCH₂]₄C (54) wurde auf analoge Weise ausgehend vom Tetrahydrochlorid [HCl-H-AC₂-Gly₅-NHCH₂]₄C (24a) und NeuAcα2-6Galβ1-4GlcNAcβ-O(CH₂)₃NH-CO(CH₂)₄COO(p-C₆H₄NO₂) (52) hergestellt. Ausbeute (54) - 63%. DC: R_f~0 (i-PrOH/Aceton/H₂O 4:3:2).

¹H-NMR Spektrum in D₂O (δ , ppm): Matrix: 1,341, 1,524 und 1,631 (m, 12H, 6 CH₂), 1,599 (m, 4H, COCH₂CH₂CH₂CH₂CO), 1,785 (m, 2H, OCH₂CH₂), 2,238 (t, 2H, J 7,4 Hz, CH₂CO), 2,260 (m, 4H, COCH₂CH₂CH₂CH₂CO), 2,349 (t, 2H, J 7,5 Hz, CH₂CO), 2,929 (s, 2H, CCH₂), 3,182 (breit. t, 4H, J 6,6 Hz, 2 CH₂N), 3,195 und 3,275 (m, 2x1H, NCH₂), 3,979, 4,022 (x3) und 4,073 (s, 10H, 5 COCH₂N). Kohlenhydrat-Signale: siehe (53).

Tabelle 9, Beispiel 13

Inhibition der viralen Zeit-Adhäsion von Influenza-Viren; Stamm A/NIB/H1N1/89M, FBI-text [siehe Tabelle 1], 6'SLN als Referenz-Verbindung.

Inhibitor	Verbindung Nr.	Relative Aktivität
6'SLN		1
[Neu5Ac-Gab-Ad-Gly ₇₋ -NHCH ₂] ₄ C	(48)	< 0,2
[6'SLN-Ap-Ad-Gly ₇₋ -NHCH ₂] ₄ C	(53)	100
[6'SLN-Ap-Ad-AC ₂ -Gly ₅₋ -NHCH ₂] ₄ C	(54)	1000

Vergleichsbeispiel 1

Die aus Beispiel 7 der WO 98/14215 bekannte Verbindung der Formel
 $\{\text{Neu5Ac}\alpha\text{2-6Gal}\beta\text{1-4GlcNAc}\beta\text{1-NHCOCH}_2\text{NH-CO(CH}_2)_4\text{CO-(NHCH}_2\text{CO})_3\text{-NHCH}_2\text{-}\}_4\text{C}$ bildet keine erfindungsgemäßen Aggregate, wie mit folgenden Methoden gezeigt wurde:

1. Dünnenschichtchromatographisch lässt sich unter folgenden Bedingungen nur eine einzige Verbindung, und zwar des Monomeren, beobachten. Spuren von Aggregaten fehlen völlig:

Silikagel 60 TLC Platten, Katalognr. 1.05724, Merck; Eluens: *i*-PrOH / Aceton / H₂O 4:3:2; Beobachtung: Verschwellung nach Eintauchen in 7% H₃PO₄.

2. Das ¹H NMR Spektrum (Bruker 500 MHz, D₂O, 300 K) der Verbindung zeigt keine Linienverbreiterung, die charakteristisch wäre für Glycopeptidaggregate.

3. Laserlichtstreuungsexperimente (Coulter Submicron Model N4MD, He-Ne Laser, λ 632,8) der Verbindung in wäßrigen Lösungen ergeben keine Hinweise auf die Bildung von Aggregaten.
4. Mit Gel-Permeations-HPLC (TSK-4000 Säule, 0,2 M NaCl) wird nur ein Peak beobachtet, der dem Molekulargewicht des Monomeren entspricht.
5. Die Aktivität dieser Verbindung bei der Inhibierung von Influenzaviren (A/NIB/23/89M H1N1, A/NIB/44/90M H3N2, B/NIB/15/89M, FBI-Test) ist vergleichbar mit derjenigen von 6`SLN Trisaccharid, während typische assoziierte Glycopeptide, wie beispielsweise das Gly₇ Analogon) um Zehnerpotenzen aktiver sind.

Es ist somit klar, dass die aus dem Stand der Technik bekannte Verbindung von denjenigen Verbindungen der vorliegenden Erfindung grundlegend verschieden ist. Der nachgewiesene funktionelle Unterschied beruht auf dem strukturellen Unterschied des Fragments K, dass zu einer intermolekularen Assoziation nicht geeignet ist, weil die Anzahl der zur Bildung von Wasserstoffbrücken geeigneten Kettensegmente zu gering ist.

Patentanspruch**1. Verbindung der allgemeinen Formel (I)**

wobei

- X für eine m-wertige Einheit steht und die
- B gleich oder verschieden sind und für K-R stehen,

wobei

- K für eine Bindung oder für $A^1-(A^2-A^3)_k-sp$ steht, wobei
- A^1 für $(CH_2)_tY(CH_2)_u$ steht, wobei
 - Y für $>C=O$, $>NH$, $-O-$, $-S-$ oder eine Bindung,
 - t für eine ganze Zahl von 0 bis 6 und
 - u für eine ganze Zahl von 0 bis 6 steht,
- A^2 für $-NHCO$ -, $-CONH$ -, $-OCONH$ - oder $SCONH$ - steht, oder für $-CO-$ steht,
- A^3 für $(CH_2)_r$, $O(CH_2)_r$, $NH(CH_2)_r$, $S(CH_2)_r$, oder $-(CHQ)-$ steht,

wobei

- r für eine ganze Zahl von 1 bis 6 und
- Q für eine substituierte oder unsubstituierte Alkyl- oder Aryl- Gruppe steht,

sp für einen zweiwertigen Spacer oder eine Bindung steht, und

k für eine ganze Zahl von 5 bis 100 steht, und

- R für Wasserstoff, einen zur spezifischen Bindung an einen Rezeptor geeigneten Liganden, ein Marker-Molekül oder eine katalytisch aktive Gruppe steht, und

m mindestens 2 ist,

mit der Maßgabe, dass

- (1) in der Verbindung mindestens ein R nicht Wasserstoff ist,
- (2) mindestens zwei K vorliegen, die nicht für eine Bindung stehen, und
- (3) X, die B und m so gewählt sind, dass eine intermolekulare Assoziation der K in flüssig r Phase durch Bildung von Wasserstoffbrücken-Bindungen

unter Ausbildung von Aggregaten, die auf der Oberfläche mehrere R präsentieren, die nicht Wasserstoff sind, möglich ist, und

- (4) die Molmasse des Fragments X(K)_m weniger als 20.000 beträgt.
2. Verbindung nach Anspruch 1, wobei die Molmasse des Fragments X(K)_m weniger als 4.000 beträgt.
3. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 oder 2, wobei
 - m für eine ganze Zahl von 2 bis 4 steht;
 - X für CH_{4-m}, NH_{3-m}, N⁺H_{4-m}, >P- (wenn m = 3), >P⁺< (wenn m = 4), >B- (wenn m = 3), eine lineare Atomgruppe C₂H_{6-m}, >CH(CH₂)_zCH<, >C=C<, >N-N<, >N(CH₂)_zN< wobei z = 2 - 6, wenn m = 4), eine carbocyclische Atomgruppe C₆H_{6-m}, C₆H_{12-m}, oder eine heterocyclische Atomgruppe C₃N₃ (wenn m = 3), C₄N₂ (wenn m = 4) steht.
4. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei mindestens 3 K vorliegen.
5. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei mindestens zwei R nicht Wasserstoff sind.
6. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei mindestens drei R nicht Wasserstoff sind.
7. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, wobei der Ligand R ein Mono- oder Oligo-Saccharid, ein Peptid, ein Mono- oder Oligo-Nukleotid oder eine Nuklein-Base ist sowie deren Derivate und Mimetika.
8. Verbindung nach Anspruch 7, wobei das Saccharid R Sialinsäure, Sialyllactose, Sialyllactosamin, Lactose, Mannose, Galα1-3Gal, Galα1-3(Fucα1-2)Gal, GalNAcα1-3(Fucα1-2)Gal, Neu5Acα2-6GalNAc, SiaLe^A, SiaLe^X, HSO₃Le^A, HSO₃Le^X, Galα1-3Galβ1-4GlcNAc, Galα1-3Galβ1-4Glc, HSO₃GlcAβ1-3Galβ1-4GlcNAc, N-Acetyl-lactosamin oder Polylactosamin ist, oder wobei das Saccharid Sialinsäurebenzylglycosid, HSO₃GlcAβ1-3Gal, HSO₃GlcAβ1-3Galβ1-4GlcNAcβ1-

$\text{3Gal}\beta\text{-}4\text{Glc}$, $\text{GalNAc}\alpha$, $\text{GalNAc}\alpha\text{-}1\text{-}3(\text{Fuca}\alpha\text{-}1\text{-}2)\text{Gal}\beta\text{-}4\text{GlcNAc}$, $\text{Gal}\alpha\text{-}1\text{-}3(\text{Fuca}\alpha\text{-}1\text{-}2)\text{Gal}\beta\text{-}4\text{GlcNAc}$, $\text{HSO}_3(\text{Sia})\text{Le}^X$, $\text{HSO}_3(\text{Sia})\text{Le}^A$, Le^Y , $\text{GlcNAc}\beta\text{-}6(\text{GlcNAc}\beta\text{-}3)\text{Gal}\beta\text{-}4\text{Glc}$, $\text{GalNAc}\beta\text{-}1\text{-}4(\text{Neu5Ac}\alpha\text{-}2\text{-}3)\text{Gal}\beta\text{-}4\text{Glc}$, Mannose-6-phosphat, $\text{GalNAc}\beta\text{-}4\text{GlcNAc}$, Oligo-Sialinsäure, N-Glycolylneuraminsäure, $\text{Gal}\alpha\text{-}1\text{-}4\text{Gal}\beta\text{-}4\text{Glc}$, $\text{Gal}\alpha\text{-}1\text{-}4\text{Gal}\beta\text{-}4\text{GlcNAc}$ ist.

9. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, wobei

- m für eine ganze Zahl von 2 bis 4 steht,
- X für CH_{4-m} ,
- A^1 für CH_2 ,
- A^2 für NHCO ,
- A^3 für CH_2 ,
- k für 8,
- sp für $(\text{CH}_2)_3\text{CONHCH}_2\text{CONHC}_6\text{H}_4\text{-}4\text{-CH}_2\text{O}$ - und
- R für $\text{Neu5Ac}\alpha\text{-}2\text{-}6\text{Gal}\beta\text{-}4\text{GlcNAc}$ steht.

10. Aggregat der allgemeinen Formel (II):

$$\{\text{X(B)}_m\}_n \quad (\text{II})$$

wobei die X(B)_m gleich oder verschieden sein können und für eine Verbindung der allgemeinen Formel (I), wie sie in einem der Ansprüche 1 bis 11 definiert ist, stehen, und

n für 2 bis 100.000 steht,

und wobei die X(B)_m nicht-kovalent gebunden sind.

11. Aggregat nach Anspruch 10 mit blattartiger, linearer, zyklischer, polyzyklischer, polyedrischer, kugelförmiger oder dendritischer Struktur.

12. Aggregat nach Anspruch 10 oder 11 aus zwei oder mehreren verschiedenen Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 9.

13. Verfahren zur Herstellung eines Aggregats wie es in einem der Ansprüche 10 bis

12 definiert wird, durch Selbstassoziation von Verbindungen nach irgendeinem der Ansprüche 1 bis 9.

14. Verfahren nach Anspruch 13, umfassend bei einer Lösung der Verbindung Zugabe einer konzentrierten Salzlösung, eine Änderung des pH bzw. der Temperatur oder eine Zugabe von organischen Lösungsmitteln.

15. Verfahren zur Änderung der Struktur der Aggregate wie sie in einem der Ansprüche 10 bis 12 definiert werden, das umfasst eine Zugabe einer konzentrierten Salzlösung, eine Änderung der Temperatur bzw. des pH oder eine Zugabe von Harnstoff, Trifluorethanol, oder Peptiden.

16. Verfahren zur Verstärkung der spezifischen physiologischen Aktivitäten von Molekülen durch ihren Einbau als Rest R in eine Verbindung der allgemeinen Formel (I) wie sie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert wird bzw. in ein Aggregat der allgemeinen Formel (II) wie es in einem der Ansprüche 10 bis 12 definiert wird.

17. Mittel, umfassend eine Verbindung wie sie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert wird bzw. ein Aggregat wie es in einem der Ansprüche 10 bis 12 definiert wird, zur Anwendung in therapeutischen oder diagnostischen Verfahren.

18. Mittel nach Anspruch 17 gegen Entzündungen, virale und bakterielle Infektionen, Influenza-Viren, Selektin-vermittelte Entzündungsprozesse, Tumor-Metastasen, oder zur Neutralisation von Antikörpern bei Autoimmunerkrankungen und Transplantationen.

19. Verwendung einer Verbindung wie sie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert wird bzw. eines Aggregats wie es in einem der Ansprüche 10 bis 12 definiert wird, zur Herstellung eines Medikaments gegen Entzündungen, virale und bakterielle Infektionen, Influenza Viren, Selektin-vermittelte Entzündungsprozesse, Tumor-Metastasen, oder zur Neutralisation von Antikörpern bei Autoimmunerkrankungen und Transplantationen.

20. Verwendung einer Verbindung wie sie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert wird bzw. eines Aggregats wie es in einem der Ansprüche 10 bis 12 definiert wird, zur Herstellung von funktionalisierten molekularen Oberflächen.

21. Verwendung einer Verbindung wie sie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert wird bzw. eines Aggregats wie es in einem der Ansprüche 10 bis 12 definiert wird, in einem analytischen Verfahren.

22. Verwendung nach Anspruch 21 in einem diagnostischen Verfahren.

23. Verbindung der allgemeinen Formel (III),



wobei

X für eine m-wertige Einheit steht und die
B gleich oder verschieden sind und für K-H stehen,
wobei
K für $A^1-(A^2-A^3)_k-sp$

steht, wobei

A¹ für $(CH_2)_tY(CH_2)_u$ steht, wobei
Y für >C=O, >NH, -O-, -S- oder eine Bindung,
t für eine ganze Zahl von 0 bis 6 und
u für eine ganze Zahl von 0 bis 6 steht,
A² für -NHCO-, -CONH-, -OCONH- oder SCONH- steht, oder für
-CO- steht,
A³ für $(CH_2)_r$, $O(CH_2)_r$, $NH(CH_2)_r$, $S(CH_2)_r$ oder -(CHQ)- steht,
wobei
r für eine ganze Zahl von 1 bis 6 und
Q für eine substituierte oder unsubstituierte Alkyl- oder
Aryl- Gruppe steht,
sp für einen zweiwertigen Spacer oder eine Bindung steht, und

k für eine ganze Zahl von 5 bis 100 steht, und
m mindestens 2 ist,
mit der Maßgabe, dass

- (1) X, die B und m so gewählt sind, dass eine intermolekulare Assoziation der K in flüssiger Phase, insbesondere unter wässrigen Bedingungen, durch Bildung von Wasserstoffbrücken-Bindungen unter Ausbildung von Aggregaten möglich ist, und
- (2) die Molmasse des Fragments $X(K)_m$ weniger als 20.000, insbesondere weniger als 4000, beträgt.

24. Verwendung einer Verbindung der allgemeinen Formel (III) nach einem der Ansprüche 22 oder 23 zur Modifikation eines Aggregats, wie es in einem der Ansprüche 10 oder 11 definiert ist.

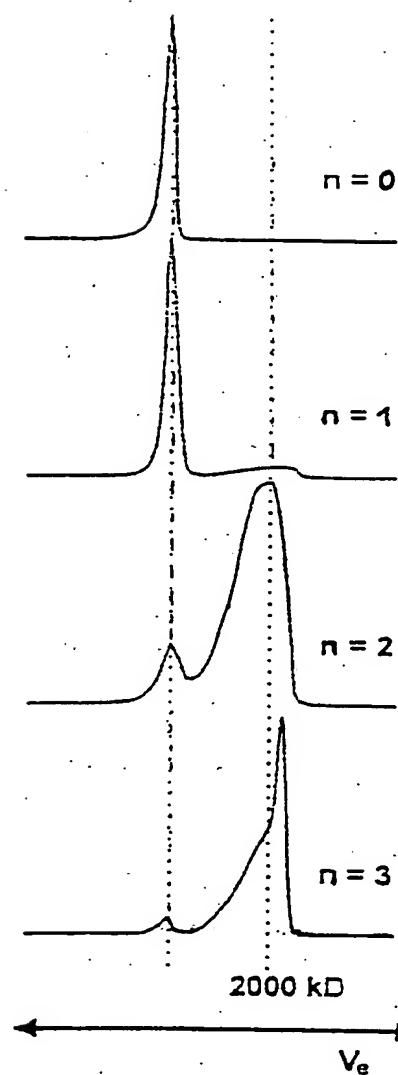
10/019902

WO 01/02018

PCT/EP00/06139

1/3

Figur 1



Elutionsprofile der Aggregate $\{[\text{Neu5Ac-Gab-AC}_m\text{-Ad-Gly}_5\text{-NHCH}_2\text{-}]_4\text{C}\}_x$,
HPLC, TSK-4000, 0.2 M NaCl

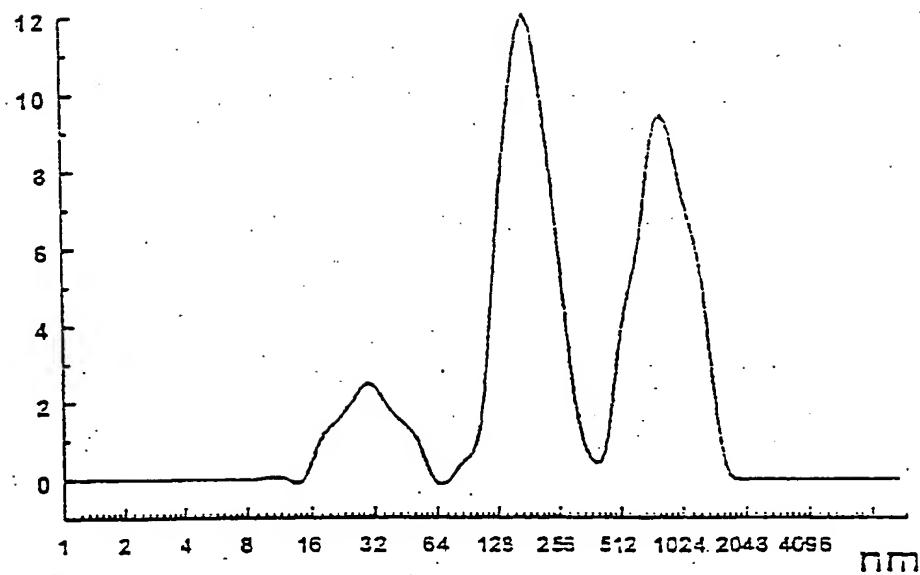
10/019902

WO 01/02018

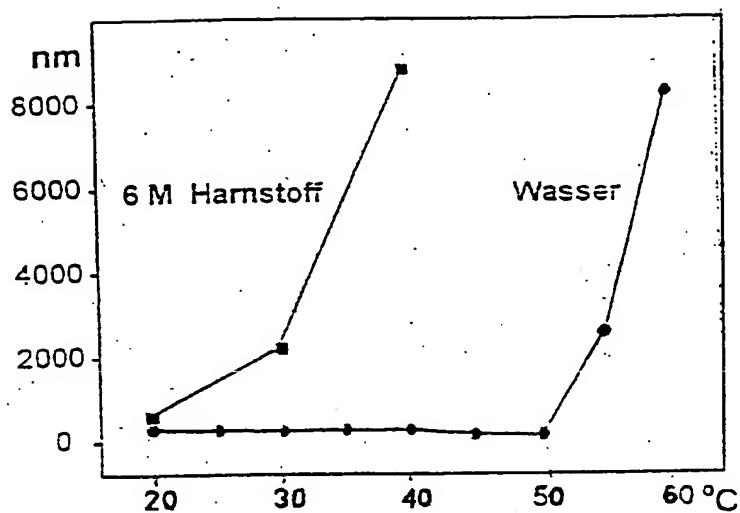
PCT/EP00/06139

2/3

Figur 2



Relative Partikelgrößenverteilung des Aggregats
{{Neu5Ac-Gab-Ad-AC₃-Gly₅-NHCH₂-}C}_x, 20°C H₂O



Einfluss der Temperatur und der Anwesenheit von Harnstoff auf die Partikelgröße des Aggregats $\{[\text{Neu5Ac-Gab-Ad-Gly}_7\text{-NHCH}_2]_4\text{C}\}_x$